Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM, München
(Leiter: Proffessor Dr. med. W. Stich)

DIE EINWIRKUNG VON TRIAMCINOLON AUF MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO (AUSGEWERTET IM GIEMSA-PRÄPARAT UND MIT ALKALISCHER LEUKOCYTENPHOSPHASE)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bärbel Christoph, geb. Roßner
aus Berlin

1972

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. K. Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM, München
(Leiter: Proffessor Dr. med. W. Stich)

DIE EINWIRKUNG VON TRIAMCINOLON AUF MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO (AUSGEWERTET IM GIEMSA-PRÄPARAT UND MIT ALKALISCHER LEUKOCYTENPHOSPHASE)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bärbel Christoph, geb. Roßner
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr.med. Horst B r ü c h e r

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30. August 1972

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	4
FRAGESTELLUNG	8
METHODE	9
ERGEBNISSE	16
STATISTISCHE AUSWERTUNG	53
ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	63
DISKUSSION	66
ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	71
LITERATURVERZEICHNIS	72

EINLEITUNG

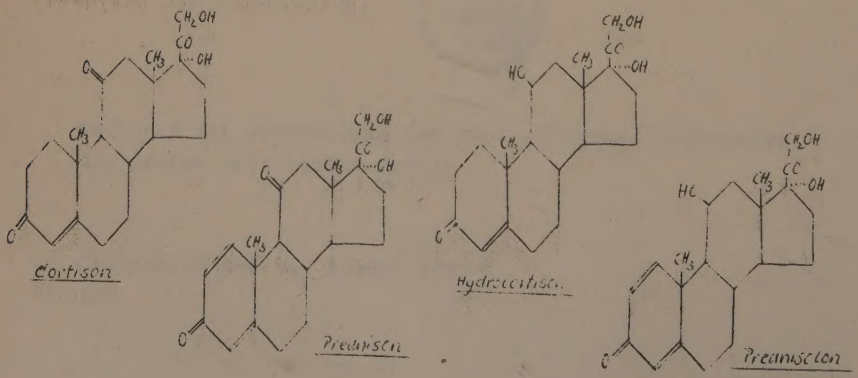
Im Jahre 1936 wurde von REICHSTEIN und STEIGER als erstes Nebennierenrindenhormon das Corticosteron isoliert, 1939 wurde Cortison und 1950 Hydrocortison synthetisiert.

In den letzten zwei Jahrzehnten haben ACTH und Corticosteroide einen immer größeren Raum in der Therapie zahlreicher Erkrankungen eingenommen. Zunächst waren die Nebenwirkungen wie Natrium- und Wasserretention, Hypertonie, Eiweißverlust und psychische Störungen sehr schwerwiegend.

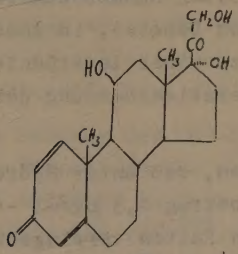
Mit der Entwicklung von Prednison und Prednisolon wurden Cortistosteroide mit geringeren Nebenwirkungen und vier- bis fünfmal stärkerer therapeutischer Wirkung als das Cortison geschaffen.

In ihrer chemischen Struktur haben alle Steroide der Nebennierenrinde - Glucocorticoide, Mineralocorticoide und Androgene - ein gemeinsames Grundgerüst, und zwar das Pregnanskelett mit 19 C-Atomen bei den Androgenen und 21 C-Atomen bei den Corticosteroiden.

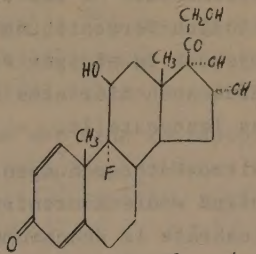
Mit der Isolierung von Hydrocortison wurde eine neue Ära der Steroidtherapie eingeleitet. 1955 dehydrierte man auf mikrobiellem Wege Cortison und Hydrocortison - so entstanden Prednison und Prednisolon.



Durch biosynthetische Einführung eines Fluor-Atoms in 9-alpha-Stellung und einer Hydroxygruppe in 16-alpha-Stellung in das Prednisolonmolekül gelangte die amerikanische Forschergruppe von BERNSTEIN[3] 1956 zur Darstellung des Triamcinolons.



Prednisolon



Triamcinolon

Dieses neue Derivat ermöglicht es, die Anfangs- und die Erhaltungsdosis auf 2/3 bis 1/2 der von Prednison benötigten Menge zu reduzieren.

Die klinischen Untersuchungen ergeben, daß Triamcinolon eine hohe Glucocorticoid-Aktivität und nur eine geringe Mineralocorticoid-Aktivität aufweist. Außerdem zeigt Triamcinolon eine stärkere entzündungshemmende Wirkung im Vergleich zu anderen Corticosteroiden.

Die Wirkung von Corticosteroiden auf den menschlichen und tierischen Organismus wurde von verschiedenen Autoren untersucht.

Eine Regenerationshemmung der Granuloblasten beim Menschen erzielte MÜLLER[23] durch hohe Prednisolon-Gaben von 1,5 bis 4 mg/kg Körpergewicht, während eine niedrigere Dosierung von 0,75 mg/kg Körpergewicht zu einer verstärkten Regeneration der Granuloblasten führte. Ebenso wurde von FLEISCHER[12] eine Verringerung der Gesamtzellzahl des Knochenmarkes von Kaninchen um 25 % nach zwei Behandlungswochen mit 1,25 mg/kg Körpergewicht Prednisolon festgestellt.

Untersuchungen an Hunden im Squibb-Institut mit Triamcinolon in einer Dosierung von 0,5 bis 2,5 mg/kg für 2 bis 7 Wochen ergaben eine Abnahme des Haematokrit, des Hb und der Erythrocytenwerte[29]. Die Granulocyten nahmen zunächst zu (wahrscheinlich Verschiebung aus den Depots), im Endstadium kam es jedoch in einigen Fällen zu einer Leukopenie. Insgesamt wurde auch hier eine Proliferationshemmung des Knochenmarkes festgestellt.

Auch in-vitro-Untersuchungen ergaben, daß unter Hydrocortison-Einfluß - die Konzentration betrug 0,5 µg/ml - sich die Mitoserate im Knochenmark von Ratten verringerte (RAPPAY[25]). Ebenso war mit Prednisolon (2,0 µg/ml) in vitro ein Rückgang der Mitoserate von menschlichen Granuloblasten auf etwa 25 % der Kontrollwerte zu beobachten (NOWELL[24]).

Eine Proliferationsförderung der weißen Reihe stellte dagegen BOLL[5] nach Zusatz von Prednisolon in der sehr hohen Konzentration von 2,5 mg/ml zur menschlichen Knochenmark-Kultur fest. Die Ergebnisse mit niedrigeren Hormonkonzentrationen der gleichen Versuchsreihe waren uneinheitlich.

Mehrere Autoren berichten über die Wirkung von Corticosteroiden auf das lymphatische System. Eine Atrophie des lymphatischen Gewebes bei Mäusen durch hohe Dosen von Prednison (180 mg/die) erreichten BASERGA und MORSIANI[1]. Sie beobachteten anfangs während kurzer Zeit eine starke Lymphopenie, später trat eine Lymphocytose auf. Die Mitosen nahmen zuerst stark ab, danach stieg die Mitoserate wieder und erreichte ihr Maximum am 6. Tag nach der Prednison-Behandlung.

Bei Versuchen mit verschiedenen Nebennierenrindenhormonen stützten sich MILLER und DUKOR[22] auf Aussagen von SANTISTEBAN und DOUGHERTY, daß "die lymphatische Involution durch Nebennierenrindensteroide linear dosisabhängig" sei. Nach MILLERs Auffassung kommt nur dem Cortisol eine direkte reifungshemmende bzw. destruierende Wirkung auf die Lymphocyten

zu. Ein Effekt auf das lymphatische Gewebe bleibt aus, wenn ein Corticoid von der Zelle nicht in Cortisol umgewandelt werden kann.

In-vitro-Versuche mit Prednisolon an menschlichen Lymphocyten wurden von ELVES und TORMEY[11, 35] durchgeführt. Beide Forscher erzielten durch Corticosteroidgabe eine Verminderung der Lymphocyten bzw. der lymphoiden Zellen in der Kultur.

Eine Hemmung der DNS-Synthese und eine konzentrationsabhängige Mitoserate bei menschlichem lymphatischen Gewebe stellte MEISSNER in Versuchen mit verschieden hohen Dosen von Prednisolon fest[19].

Ähnliche Ergebnisse in Bezug auf die Mitoserate von menschlichem lymphatischen Gewebe unter steigender Corticosteroid-Dosierung erhielten GABOURELund ARONOW[13] und JAFFE[14].

Versuche an Mäusefibroblasten mit verschieden hohen Corticosteroid-Dosen führte TAIFOUR[32] durch. In Vorversuchen testete er 10 verschiedene Nebennierenrindensubstanzen - unter anderem Triamcinolon und Prednisolonacetat - auf ihre optimale Wirksamkeit. Er beobachtete das Wachstum von Mäusefibroblasten zu verschiedenen Zeitpunkten und stellte gegenüber den Kontrollversuchen fest, daß unter Triamcinolon-Einfluß nach 2 bis 6 Tagen Kulturzeit eine starke Zellvermehrung zu verzeichnen war, im Gegensatz zu Prednisolonacetat, das nur eine dünne Besiedlung mit Mäusefibroblasten zuließ. In den Hauptversuchen verwendete er unter anderem Prednisolon in einer Verdünnungsreihe von 0,1 µg/ml bis 1000 µg/ml. Er stellte dabei fest, daß mit steigender Konzentration die Mitoserate abnimmt; schon bei der niedrigsten Konzentration ging die Mitosezahl zurück.

Ebenfalls eine Mitosehemmung ergaben Untersuchungen von SEIFERT und HILZ[27] an verschiedenen Zellarten von Rattenorganen mit 0,36 µg/ml Cortisol.

FRAGESTELLUNG

Mit dieser Arbeit soll die Frage beantwortet werden, wie sich Triamcinolon in Kulturen auf die Proliferation von menschlichem Knochenmark auswirkt. In den vorangegangenen Versuchen (BOLL[5]) wurde Prednisolon in relativ hohen Dosen zugegeben - mit unterschiedlichen Resultaten. Wir wählten die Hormonkonzentration von 0,25 µg/ml, weil sie in vitro Fibroblasten deutlich hemmte (TAIFOUR[32]).

Nach KRISCH[17] enthält das menschliche Plasma unter physiologischen Bedingungen 0,1 bis 0,2 µg/ml Gesamt-Cortisol; das würde 0,02 bis 0,04 µg/ml Triamcinolon entsprechen.

Ebenfalls soll untersucht werden, ob die alkalische Leukocytenphosphatase (ALP) durch Triamcinolon in den Knochenmarkzellen in ihrer Aktivität verändert wird.

Bei in-vivo-Versuchen fanden STRAUSZ[30] und SZATMAR[31] durch Prednisolon bzw. ACTH eine Steigerung der ALP-Aktivität an menschlichen Granulocyten. Bei Mamma-Zellen in vitro sahen COX und McLEOD[9] eine Steigerung der ALP-Aktivität nach Gabe von Prednisolon. Anfänglich inaktive Zellen zeigten nach Hormonzusatz Fermentaktivität.

Durch Abklärung dieser Fragen hoffen wir, die Grundlagen für die gezielte Behandlung von akuten Leukaemien zu schaffen.

METHODE

Die Knochenmarkkulturen werden nach der Technik von CARREL und der von BOLL[4] modifizierten Methode angelegt.

Unter sterilen Bedingungen wird ein Koagulum aus 5 Teilen Eigenplasma, 3 Teilen Eigenserum, 1 Teil Corhormon und 1 Teil Triamcinolon-Lösung hergestellt, das auf einen Objektträger gebracht wird. Auf dieses Medium wird ein Bröckchen Knochenmark gesetzt und anschließend mit einem Serumtröpfchen bedeckt. Mit Vaseline wird dann über dem Koagulum ein Hohlschliffobjektträger befestigt und die nun fertige Kultur umgedreht. Nach Verschließen der Deckglasränder mit Hartparaffin erfolgt die Inkubation im Brutschrank bei +37° C. Die Triamcinolon-Konzentration im Koagulum und Serumtröpfchen beträgt 0,25 µg/ml.

Weitere Kulturen werden angelegt, die kein Triamcinolon enthalten.

Nach 24, 48 und 72 Stunden werden von allen Kulturen Ausstriche angefertigt, die nach zwei verschiedenen Färbemethoden gefärbt werden:

Die erste Methode ist die Pappenheim-Färbung, die zweite erfolgt nach der Azokupplungsreaktion (KAPLOW[16]), modifiziert von MERKER und HEILMEYER[20].

Es handelt sich bei der letztgenannten Färbung um eine Simultanmethode, d.h. Phosphatabspaltung und Bildung des sichtbaren Farbniederschlages - des Azofarbstoffes - erfolgen in einem einzigen Entwicklungsschritt nebeneinander. Der Färbegang wird folgendermaßen durchgeführt:

1. Die luftgetrockneten Präparate werden mit 4-%iger Formollösung fixiert und anschließend unter klarem Wasser abgespült.
2. Es wird jetzt eine Substratmischung aus 35 mg Natrium-alpha-Naphthylphosphat, 70 mg Variaminblausalz B conc. und 70 ml 0,1 n Veronal-HCl-Puffer (nach SPANNHOFF[28]) hergestellt. Der pH-Wert der Mischung liegt bei 9,2 bis 9,6. In dieser Substratmischung werden die Objektträger bei +7° C 1 Stunde im Kühlschrank inkubiert.
3. Anschließend wieder gut unter fließendem Wasser spülen.
4. Die Gegenfärbung erfolgt mit Haemalaunlösung nach MAYER 10 Minuten. Danach wieder spülen.
5. Die luftgetrockneten Präparate werden dann, um ein Herauslösen des Farbniederschlages unter Ölimmersion zu verhindern, mit Deckgläschen und Glyceringelatine eingebettet.

Im Giemsa-Präparat erfolgt die Differenzierung der einzelnen Zellen des Knochenmarkes auf folgende Weise:
Man unterscheidet bei der

Erythropoese:

1. Proerythroblast = Der Zellkern ist fein strukturiert und von wenig dunkelblauem Cytoplasma umgeben, das oft charakteristische Ausläufer ("Öhrchen") aufweist.
2. basophiler Erythroblast = Die Zellgröße ist variabel, meist runder, gröber strukturierter Kern, umgeben von stark basophilem Cytoplasma.

3. polychromatischer Erythroblast	= Die Zellkerndichte nimmt zu, der Kern wird dunkler, das Cytoplasma hat eine schmutzig-grau-blaue Färbung. Zelle insgesamt kleiner als die Vorstufen.
4. orthochromatischer Erythroblast	= Zellkern noch dichter, das umgebende Cytoplasma ist orange-rot.
5. reifer Erythroblast	= Der runde Zellkern ist schwarz und strukturlos, das Cytoplasma kann grau-blau bis orange gefärbt sein.

Plasmazellen: Ein kleiner, rund-ovaler Kern mit Radspeichenstruktur ist von viel basophilem Cytoplasma umgeben. Das Kern-Plasma-Verhältnis beträgt 1 : 4,5. Das Cytoplasma weist perinukleäre Aufhellung auf. Der Kern liegt meist exzentrisch.

Retikulumzellen: Man unterscheidet große und kleine Retikulumzellen. Der Kern ist rund bis oval und von lockerer Struktur; das Cytoplasma ist selten abgrenzbar.

Phagocytierende Retikulumzellen: Die Form ist ähnlich wie bei den großen bzw. kleinen Retikulumzellen; nur ist das Cytoplasma durch eingelagerte Fremdkörper besser sichtbar.

Megakaryocyten: Riesenzelle mit rotblauem Cytoplasma und stark gebuchtetem Kern.

Monocyten:

1. Promonocyt = Rauchgraues Cytoplasma, Kernform ähnlich dem Myelocyten.

2. Monocyt = Wie Promonocyt, nur stärker gebuchteter Zellkern.

Lymphocyten: Dunkler, tropfenförmiger Kern, umgeben von schwach basophilem Cytoplasma. Oft nur als Cytoplasmahäubchen erkennbar.

Lymphoblasten: Sie ähneln den Myeloblasten, die Kernstruktur ist hier jedoch verwaschener als beim Myeloblasten, das Cytoplasma mittel- bis hellblau.

Granulocytopoese:

1. Myeloblast = Der Zellkern ist von einem schmalen, dunkelblauen Cytoplasmasaum umgeben. Der Kern weist oft Nucleolen auf, die Struktur ist verwaschen. Kern-Plasma-Verhältnis 1 : 1,4.

2. Promyelocyt = Diese Zelle ist die größte der Granulocytopoese. Ein breiter Cytoplasmasaum, der azurophile Granulation zeigt, umgibt einen

locker strukturierten Kern, der leicht eingebuchtet sein kann. Kern-Plasma-Verhältnis 1 : 3.

3. Myelocyt = Charakteristisch für diese Zelle ist der nieren- oder bohnenförmige Kern. Das Cytoplasma ist hellblau, die Chromatinstruktur dichter als bei den Vorstufen.

4. Metamyelocyt = Mit dem Reifungsgrad der Zelle nimmt der Verformungsgrad des Kernes zu. Hier ist er stärker gebuchtet und pyknotischer.

5. neutrophiler Stabkerniger = Die Cytoplasmafarbe geht vom rötlich-bläulichen Ton in einen rötlicheren über, der Kern hat meist Hufeisenform.

6. neutrophiler Segmentkerniger = Der Kern ist an 2 bis 3 Stellen bis auf ein Drittel eingeschnürt, so daß 3 bis 4 Segmente entstehen. Das Cytoplasma ist neutrophil granuliert.

Die eosinophilen Zellen zeigen in ihrer Granulation eine ziegelrote Farbe, und die Segmentkernigen weisen nur eine Einschnürung auf.

Die basophilen Zellen haben eine stark dunkelblaue Granulation, die manchmal den Zellkern überlagert.

Bei der ALP-Reaktion weisen unter dem Mikroskop Segmentkernige und Stabkernige, manchmal auch Jugendliche, seltener Myelocyten und Promyelocyten, dunkelgelbe bis braun-schwarze diffuse und granuläre Farbniederschläge im Cytoplasma auf. Außerdem zeigen Retikulumzellen, Fibroblasten und Kapillarendothelien eine Aktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase (ALP)[21]. Die Zellkerne sind frei von ALP-Aktivität; oft werden sie jedoch von Farbniederschlägen überlagert. 1965 wurde zum ersten Mal von SCHUBERT[26] nachgewiesen, daß auch Myeloblasten Fermentaktivität aufweisen.

Bei der Auswertung der ALP-Präparate entfallen unter anderem die Granulierung und die Basophilie des Cytoplasmas, die man bei der Pappenheim-Färbung zur Differenzierung der einzelnen Zelltypen heranzieht. Aus diesem Grunde muß man andere Kriterien zur Zellunterscheidung wählen:

a) Zellgröße
b) Kernform
c) Kernstruktur
d) Kern-Plasma-Verhältnis.

Im übrigen halten wir uns in der Auswertung an das modifizierte Bewertungsverfahren der ALP von MERKER und HEILMEYER[21]. Je nach Stärke der ALP-Reaktion werden die Zellen in ein 0- bis 5-System eingeordnet:

0 = Keine Reaktion.
1 = Erkennbare gelblich bis braune Farbniederschläge im Zentrum.
2 = Wie bei 1, nur Ausbreitung des Niederschlages zur Zellperipherie.
3 = Homogene granuläre, weniger diffuse Farbpräzipitate in der ganzen Zelle.
4 = Verdichtung des Farbniederschlages zu braun-schwarzen Flecken. Die Kerngrenzen sind noch erkennbar.
5 = Die gesamte Zelle ist dunkelbraun-schwarz gefärbt, der Kern ist von dem Niederschlag überlagert.

Die meisten Untersuchungen der ALP-Aktivität wurden bisher an Blutausstrichen vorgenommen. DÜRING arbeitete erstmals mit Knochenmarkzellen[10]. Um eine Vergleichsmöglichkeit der einzelnen Ausstriche zu bekommen, wird der von DÜRING für Knochenmarkzellen aufgestellte ALP-Index benutzt. Die Ermittlung erfolgt analog dem nachstehenden Schema:

Die Zahl der in die einzelnen Aktivitätsstufen (0 - 5) eingeordneten Zellen einer Reifestufe der Granulocytopoese wird mit ihrer Aktivitätsstufe multipliziert. Die so erhaltenen 6 Produkte werden addiert, die Summe mit 100 multipliziert und durch die Zahl der ausgewerteten Zellen dieser Reifestufe dividiert. Dieser errechnete Wert wird ALP-Index genannt. Da die Retikulumzellen ebenfalls ALP-Aktivität zeigen, wird dafür genauso ein Index ermittelt. Man erhält daher 3 ALP-Indices für die retikulären Zellen (große, kleine und phagocytierende Retikulumzellen) und 6 ALP-Indices für die Granulocytopoese (Myeloblast, Promyelocyt, Myelocyt, Metamyelocyt, Stabkerniger und Segmentkerniger).

Für jeden Ausstrich (24, 48, 72 Stunden und Sofortausstrich) wird außerdem ein ALP-Gesamtindex errechnet. Dabei werden Retikulumzellen und granulocytopoetische Vorstufen getrennt ausgewertet:

Es wird der ALP-Index einer Zellart mit der dazugehörigen Zellzahl multipliziert. Man addiert diese Produkte (6 für die Granulocytopoese, 3 für die Retikulumzellen) und dividiert die Summe durch die Gesamt-Zellzahl der weißen Zellen bzw. der Retikulumzellen dieses Ausstriches. Dieses Ergebnis stellt den ALP-Gesamtindex des betreffenden Ausstriches dar.

ERGEBNISSE

Als Untersuchungsmaterial dienten Knochenmarkproben von 5 Patienten, die nicht unter einer Corticosteroid-Therapie standen. Die Kulturen von 4 Patienten wurden im Hinblick auf die Auswirkungen von Triamcinolon auf die Zellproliferation untersucht. Es wurden von den nach Pappenheim gefärbten Präparaten pro Stichprobe 2.000 Zellen gezählt. Als Maß für die Auswirkung auf die Proliferation wurden Reifungskurven, Mitoseindices, karyologische Kurven und G/E-Indices verwendet.

Um eine Beeinflussung der alkalischen Leukocytenphosphatase durch Triamcinolon festzustellen, wurden von 4 Patienten zusätzliche Ausstriche angefertigt. Pro Präparat wurden 1.000 Zellen ausgezählt. Zwei Präparate wiesen so schlechtes Zellmaterial auf, daß nur eine Zählung von ca. 650 Zellen möglich war.

Dem Gesamtergebnis liegen 84.000 gezählte Zellen zu Grunde, davon 56.000 in der Pappenheim-Färbung und 28.000 Zellen in der ALP-Färbung.

Erläuterungen zu den Abbildungen 1 - 4:

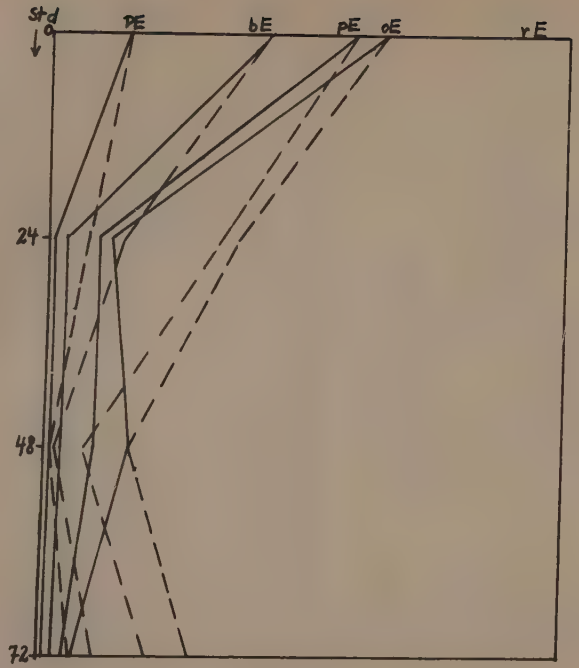
Aufgetragen wurden auf der linken Seite auf der Abszisse die Zellen der Erythropoese. Es bedeuten:

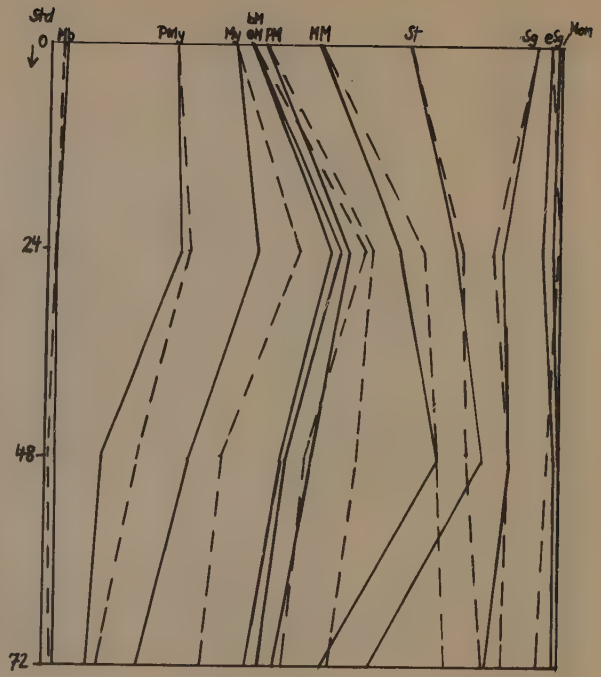
O - PE	= Proerythroblasten in %
PE-bE	= basophile Erythroblasten in %
bE-pE	= polychromatische Erythroblasten in %
pE-oE	= oxyphile Erythroblasten in %
oE-rE	= reife Erythroblasten in %.

Aufgetragen wurden auf der rechten Seite auf der Abszisse die Zellen der Granulocytopoese. Es bedeuten:

O - Mb	= Myeloblasten in %
Mb-Pmy	= Promyelocyten in %
Pmy-My	= neutrophile Myelocyten in %
My-eM	= eosinophile Myelocyten in %
eM-bM	= basophile Myelocyten in %
bM-PM	= Promonocyten in %
PM-MM	= Metamyelocyten in %
MM-St	= Stabkernige in %
St-Sg	= neutrophile Segmentkernige in %
Sg-eSg	= eosinophile Segmentkernige in %
eSg-bSg	= basophile Segmentkernige in %
bSg-Mon	= Monocyten in %
-----	= Triamcinolon-Zusatz
———	= Kontrollausstriche.

Auf den Ordinaten wurden jeweils 24, 48 und 72 Stunden Kultivierungszeit aufgetragen.





Fall I: R. K.

——— Kontrolle

– – – – – Triamcinolon

Abb. 1

Fall I: R. K., 59 Jahre

Klinische Diagnose: Infektanaemie (Zustand nach grippalem Infekt)

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: 2 x 0,25 mg Lanicor^{R} pro die.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion: Hb = 12,6 g%, Erythrocyten = 3,79 Mill./cmm, Thrombocyten = 192.000/cmm, Hb_E = 33,1 pg, Retikulocyten = 15 ‰.
Leukocyten = 3.800/cmm, Fe im Serum = 138 gamma-%.

BSG: 21/45 mm n.W.

Sternalpunktion: Vermehrte und linksverschobene Erythropoese wie z.B. nach Aufhebung der Eisenblockade im RES nach abgeklungenem Infekt.

Aus der Reifungskurve (Abbildung 1) ist folgendes zu erkennen:

Nach 24 Stunden Bebrütungszeit findet man bei der Erythropoese im Giemsa-Präparat weniger reife Erythroblasten im Triamcinolon-Ausstrich als im Kontrollpräparat. Nach 48 Stunden reifen mehr Erythroblasten im Zusatzpräparat aus, so daß sich die Werte denen des Kontrollpräparates angleichen. Im 72-Stunden-Präparat finden wir - wie schon nach 24 Stunden - mehr reife Zellen in den Kontrollkulturen.

In der Erythropoese ist es durch Triamcinolon zu einer signifikanten Ausreifungshemmung gekommen (Tabelle 15).

In der Granulocytopoese finden wir in diesem Fall eine ganz ähnliche Verschiebung der Kurve nach rechts. Nach 24 Stunden ergibt sich im Triamcinolon-Ausstrich eine relative Vermehrung der teilungsfähigen, d.h. unreifen Granuloblasten

gegenüber dem Kontrollpräparat, ebenso nach 48 Stunden und noch stärker im Ausstrich nach 72 Stunden. Hier ist die Zellausreifung wesentlich geringer unter Hormonanwesenheit als im Leerversuch (Abbildung 1).

Die Hemmung der Zellausreifung durch das Corticosteroid ist statistisch signifikant (Tabelle 15).

Die G/E-Indices der Hormonpräparate nach 24 und 48 Stunden liegen etwa so hoch wie die der Kontrollen, nur der 72-Stunden-Wert liegt höher (Tabelle 5).

Vergleicht man die Mitoseindices der Kontroll- und Hormonzusatzausstriche in der Erythropoese, so erkennt man, daß das Triamcinolon die Mitosen völlig gehemmt hat (Tabelle 6).

Bei der Granulocytopoese ist es zwar nicht zu einer völligen Hemmung der Mitosen gekommen, aber die Werte sind im Vergleich mit den Kontrollen doch wesentlich niedriger (Tabelle 7).

Das Triamcinolon übt also eine blockierende Wirkung auf die Regeneration der Erythropoese aus, auf die Regeneration der weißen Reihe wirkt das Hormon hemmend.

Um die Wirkung des Corticosteroids auf die Aktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase zu erkennen, vergleichen wir die ALP-Gesamtindices miteinander (Tabelle 1):

Der Gesamtindex der Retikulumzellen (große, kleine und phagocytierende) in der Kontrolle ergibt eine Steigerung der Aktivität bis zum 48-Stunden-Präparat; danach sinkt der Index wieder ab, bleibt aber über dem 0- und 24-Stunden-Wert. Die gleiche Tendenz finden wir bei den Ausstrichen mit Triamcinolon-Zusatz, nur daß hier die Werte - bis auf den 48-Stunden-Index - höher liegen.

Beim Vergleich der ALP-Gesamtindices für die Granulocytopoese sieht man das gleiche Verhalten wie bei den Retikulum-

zellen: Nach 24 und 48 Stunden liegen die Indices in den Zusatzkulturen etwas höher als in den Kontrollen, nur der 72-Stunden-Wert liegt niedriger.

Tabelle 1: ALP-Indices/zugehörige Zellzahlen

ALP-Indices bei den Kontrollen

	0 h	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	0/208	114/ 28	184/ 57	3/128
kl. Retikulumzellen	2/292	47/243	128/170	12/418
phag. Retikulumzellen	200/ 6	0/ 3	210/ 90	20/ 34
Gesamtindex	3/586	5/274	161/137	11/580
Myeloblasten	0/ 4	0/ 3	0/ 7	0/ 3
Promyelocyten	0/ 37	12/ 25	11/ 70	0/ 14
Myelocyten	0/104	19/270	73/131	32/ 82
Metamyelocyten	3/156	82/167	110/125	40/127
Stabkernige	6/ 95	137/ 71	196/120	107/ 68
Segmentkernige	48/113	104/214	195/281	156/ 94
Gesamtindex	13/429	38/750	140/734	77/388

ALP-Indices bei Triamcinolon-Zusatz

	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	92/ 74	85/ 45	16/ 34
kl. Retikulumzellen	26/701	33/579	26/568
phag. Retikulumzellen	0/ 0	0/ 0	0/ 0
Gesamtindex	32/775	37/624	26/602
Myeloblasten	0/ 0	0/ 2	0/ 0
Promyelocyten	0/ 5	0/ 2	0/ 7
Myelocyten	25/139	16/175	6/134
Metamyelocyten	51/ 83	179/123	64/149
Stabkernige	67/ 24	356/ 66	129/ 87
Segmentkernige	59/ 49	248/116	101/ 94
Gesamtindex	41/300	159/484	66/471

Abb. 2

Fall II: R.B.

Kontrolle

Triamcinolon

Fall II: R. B., 59 Jahre

Klinische Diagnose: Hypochrome Anaemie bei blutenden Haemorrhoidalknoten, BSG-Beschleunigung unklarer Ätiologie.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: Keine Medikation.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion: Hb = 10,6 g%, Erythrocyten = 3,67 Mill./cmm, Thrombocyten = 211.000/cmm, Hb_E = 29,0 pg, Fe im Serum = 37 gamma-%.
Leukocyten = 5.600/cmm, Basophile = 1 %, Eosinophile = 3 %, Stabkernige = 1 %, Segmentkernige = 77 %, Lymphocyten = 17 %, Monocyten = 1 %.

BSG: 36/70 mm n.W.

Sternalpunktion: Gesteigerte, linksverschobene Erythropoese entsprechend einer Eisenmangelanaemie bei chronischer Blutung. Retikulum- und Plasmazellvermehrung wie sie bei Hepatopathie vorkommt.

Für diesen Fall ergibt sich aus der Reifungskurve im 24-Stunden-Ausstrich der Erythropoese eine klare Verminderung der reifen Zellen im Hormonpräparat gegenüber den Leerversuchen. Nach 48 Stunden Kultivierungszeit finden sich im Triamcinolon-Präparat ebenfalls mehr unreife Zellen als im Kontrollausstrich. Nach 72 Stunden sind die Werte fast angeglichen (Abbildung 2). Die Erythropoese ist durch die Anwesenheit von Triamcinolon signifikant in der Zellausreifung gehemmt (Tabelle 15).

Die Reifungskurve der Granulocytopoese zeigt unter Triamcinolon-Einfluß in ihrem Verlauf keinen wesentlichen Unterschied zu der Reifungskurve in den Kontrollkulturen (Abbildung 2).

Die G/E-Indices der Hormonzusatzausstriche liegen hier bei 24 und 48 Stunden niedriger und bei 72 Stunden höher als in den Leerversuchen (Tabelle 5).

In der roten Reihe sind keine Mitosen in den mit Triamcinolon versetzten Kulturen zu verzeichnen. Die Zellregeneration ist durch das Hormon stark gehemmt (Tabelle 6).

Die Mitosen der Granulocytopoese haben in den Ausstrichen mit Hormonzusatz eine Hemmung erfahren, so daß die niedrigeren Werte auch hier für eine Regenerationsverminderung sprechen (Tabelle 7).

Das Ergebnis dieses Falles ist eine signifikante Proliferationshemmung in der Erythropoese, während in der Granulocytopoese durch das Hormon eine leichte Regenerationshemmung zu verzeichnen ist.

Bei der Auswertung der ALP-Kontrollausstriche stellt man fest, daß der niedrigste Gesamtindex für die Retikulumzellen im Originalausstrich liegt. Der Index steigt nach 24 Stunden und 48 Stunden nur wenig an. Nach 3 Tagen Bebrütungszeit ist der ALP-Gesamtindex dann aber rapide angestiegen.

Das Verhalten der Fermentaktivität in den Hormonpräparaten ist in diesem Fall recht unterschiedlich, denn der Gesamtindex für die retikulären Zellen liegt nach 24 Stunden am höchsten, fällt nach 48 Stunden ab, um nach 72 Stunden wiederum etwas anzusteigen. (In dem entsprechenden Kontrollpräparat zeigte sich ein stetiger Anstieg!)

Betrachtet man jetzt die ALP-Indices für die Kontrollkulturen der Granulocytopoese, so findet man auch hier den niedrigsten Index bei 0 Stunden. Bei 24 Stunden zeigt sich

eine beachtliche Erhöhung des ALP-Gesamtindex; er steigt auch weiter an über 48 Stunden und erreicht seinen höchsten Wert zum Zeitpunkt von 72 Stunden.

Ähnlich sieht es mit den Indices für die weiße Reihe unter Triamcinolon aus: Der ALP-Gesamtindex zeigt bei 24 Stunden einen relativ hohen Wert. Dieser fällt nach 48 Stunden etwas ab und steigt nach 72 Stunden erneut an (Tabelle 2).

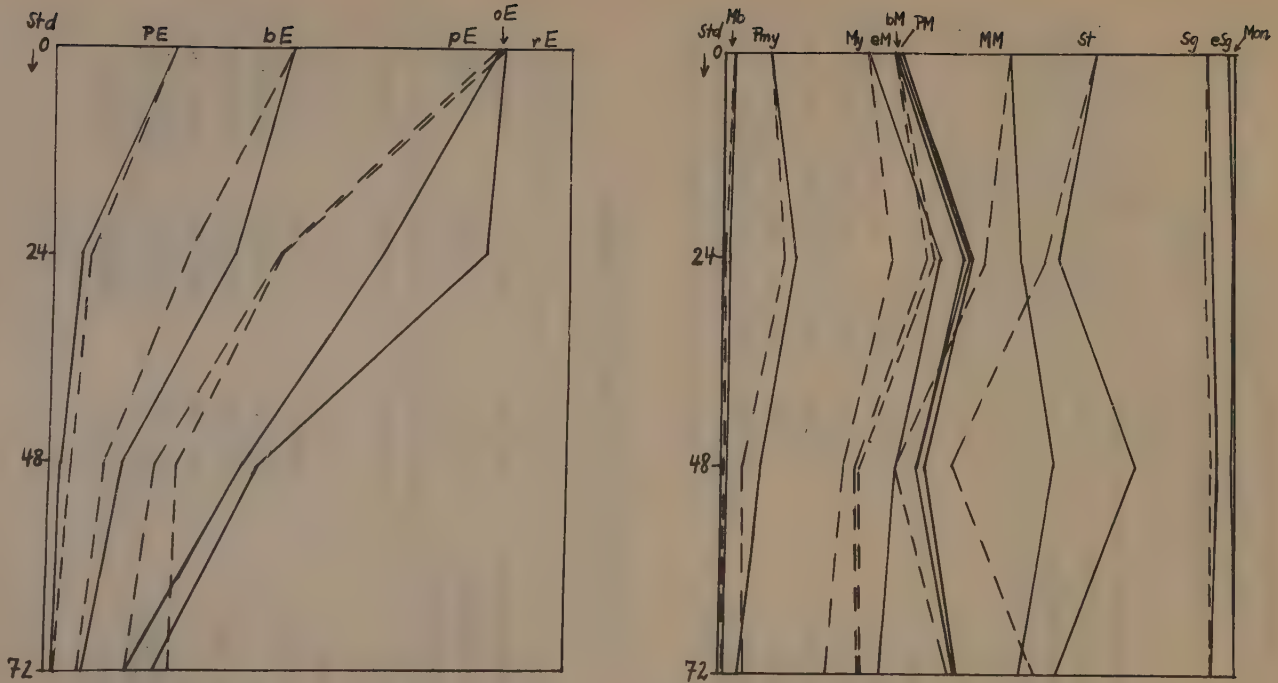
Tabelle 2: ALP-Indices/zugehörige Zellzahlen

ALP-Indices bei den Kontrollen

	0 h	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	25/ 64	75/231	52/112	258/221
kl. Retikulumzellen	0/156	6/162	23/286	92/257
phag. Retikulumzellen	50/ 8	68/ 40	42/ 38	129/ 73
Gesamtindex	9/228	13/433	20/436	167/551
Myeloblasten	75/ 8	0/ 6	0/ 4	143/ 14
Promyelocyten	6/ 85	0/ 41	49/ 86	191/ 32
Myelocyten	10/242	92/134	146/259	219/163
Metamyelocyten	3/194	78/105	156/162	220/124
Stabkernige	16/188	91/128	190/ 58	280/ 88
Segmentkernige	45/167	168/157	154/ 69	303/ 84
Gesamtindex	17/884	101/571	134/638	240/505

ALP-Indices bei Triamcinolon-Zusatz

	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	120/ 88	31/ 64	53/203
kl. Retikulumzellen	68/314	22/307	60/408
phag. Retikulumzellen	0/ 0	0/ 2	0/ 0
Gesamtindex	77/402	23/373	58/611
Myeloblasten	0/ 2	0/ 4	0/ 5
Promyelocyten	19/ 52	0/ 10	0/ 5
Myelocyten	76/241	53/139	176/152
Metamyelocyten	126/160	134/244	186/138
Stabkernige	217/ 60	197/ 60	213/ 79
Segmentkernige	157/ 98	74/206	285/ 27
Gesamtindex	125/613	101/663	189/406



Fall III : H. M.

——————— Kontrolle

— — — — — — Triamcinolon

Abb. 3

Fall III: H. M., 48 Jahre

Klinische Diagnose: Toxische Leberschädigung, Zustand nach Coma hepaticum infolge Diphenylhydantoin und Tuberkulostatika (wegen verkäsender Halslymphknoten), Ulcus ventriculi mit Teerstühlen, primär chronische Polyarthritis.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: Dihydergot^{R} 3 x 15 Tropfen, Lanicor^{R} 0,25 mg, Atropin 3 x 0,5 mg, Phosphalugel^{R} 3 x 1 Eßlöffel/die, Kobalt-Ferrlecit^{R} 80 mg.

Blutbild am Tag der Sternalpunktion: Hb = 11,6 g%, Erythrocyten = 3,88 Mill./cmm, Hb_E = 30 pg, Thrombocyten = 220.000/cmm. Leukocyten = 4.300/cmm, Retikulocyten = 56 %. Fe im Serum = 46,6 gamma-%.

Sternalpunktion: Gesteigerte und linksverschobene Erythropoese entsprechend der anbehandelten Eisenmangelanaemie, die Vermehrung der lymphoretikulären und plasmazellulären Elemente entspricht der Hepatopathie.

Die Reifungskurve der roten Reihe zeigt nach 24 Stunden im Triamcinolon-Präparat eine deutliche Zunahme der reifen Zellen. Nach 48 Stunden findet sich die gleiche Tendenz: Die Ausreifung nimmt unter Hormonzusatz zu. Nach 72 Stunden hat die Kultur ohne Zusatz die Reifung der Triamcinolon-Kultur eingeholt (Abbildung 3).

Das Triamcinolon bewirkt also in der roten Reihe eine signifikant beschleunigte Zunahme der reifen Zellen (Tabelle 15).

Die granulocytopoetische Ausreifungskurve läßt zum Zeitpunkt von 24 Stunden eine Verminderung der teilungsfähigen Granuloblasten unter Corticosteroidzusatz erkennen. Nach 48 Stunden reift die Zusatzkultur gut aus. Bei 72 Stunden finden wir im Hormonzusatzausstrich weniger reife Zellen als in der Vergleichskultur (Abbildung 3).

In diesem Fall ist ein eindeutiger Einfluß des Triamcinolons auf die weiße Reihe nicht zu ersehen.

Die G/E-Indices liegen in den Kulturen mit Corticosteroidzusatz zu allen Zeitpunkten höher als in den Vergleichspräparaten (Tabelle 5).

In der roten Reihe sind nur nach 24 Stunden Mitosen in der Zusatzkultur aufgetreten. Nach 48 und 72 Stunden waren keine Mitosen sichtbar (Tabelle 6).

In der weißen Reihe sind die Mitosen in der Triamcinolon-Kultur bei 24 und 72 Stunden erniedrigt, nur bei 48 Stunden ist die Mitoserate gegenüber den Kontrollen geringfügig erhöht (Tabelle 7).

Zusammenfassend läßt sich zu diesem Fall sagen, daß die Regeneration in der roten Reihe unter Triamcinolon nach 48 und 72 Stunden deutlich abnimmt, während die Ausreifung der roten Reihe gefördert wird.

In der Granulocytopoese ist kein eindeutiger Einfluß des Hormons auf die Regeneration und die Proliferation zu erkennen.

Bei Auswertung der ALP-Ausstriche zeigen nur die großen Retikulumzellen im Sofortausstrich Aktivität. Der ALP-Gesamtindex der retikulären Zellelemente steigt in den Kontrollen von 0 über 24 bis 48 Stunden an. Nach 72 Stunden sinkt dann die Aktivität etwas ab (Tabelle 3).

Auch in den Kulturen mit Triamcinolon erkennt man den gleichen Trend: Ein Ansteigen des ALP-Index von 24 über 48 Stunden. Nach 72 Stunden ist auch hier ein Absinken des ALP-Gesamtindex zu verzeichnen. Die Werte für die Hormonzusatzkulturen liegen aber insgesamt etwas höher als in den Kontrollen.

Auch in der granulocytopoetischen Reihe findet man ein Ansteigen der Aktivität der Phosphatase bis zum Zeitpunkt von 48 Stunden in den Kontrollen. Danach sinkt der Gesamtindex wieder etwas ab, jedoch nicht unter den Wert von 24 Stunden. Ebenso wie bei den Retikulumzellen liegen auch hier die ALP-Indices mit Triamcinolon etwas über den vergleichbaren Kontrollkulturen, nur nach 72 Stunden ist die Aktivitätssteigerung erheblich.

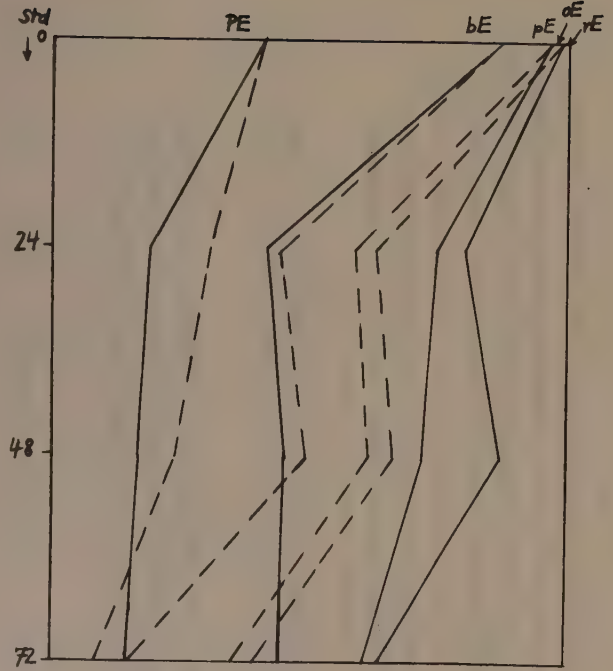
Tabelle 3: ALP-Indices/zugehörige Zellzahlen

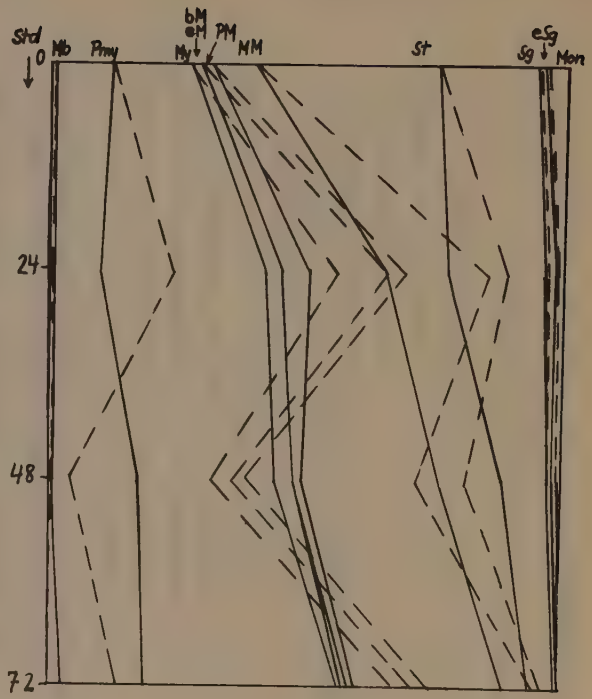
ALP-Indices bei den Kontrollen

	0 h	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	23/ 88	7/ 58	76/ 21	0/ 14
kl. Retikulumzellen	0/106	9/152	12/365	3/408
phag. Retikulumzellen	0/ 0	20/ 10	0/ 0	7/ 28
Gesamtindex	10/194	14/220	18/386	3/450
Myeloblasten	18/ 17	0/ 0	0/ 0	0/ 0
Promyelocyten	4/ 56	9/ 47	6/ 33	0/ 8
Myelocyten	0/127	25/182	5/290	0/181
Metamyelocyten	0/165	42/131	17/115	0/109
Stabkernige	0/184	45/ 75	87/ 77	0/119
Segmentkernige	8/266	37/349	64/112	9/217
Gesamtindex	3/815	18/784	28/627	4/634

ALP-Indices bei Triamcinolon-Zusatz

	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	87/ 30	73/ 26	11/37
kl. Retikulumzellen	13/323	26/155	5/236
phag. Retikulumzellen	29/ 31	0/ 15	0/ 7
Gesamtindex	15/384	30/196	6/280
Myeloblasten	0/ 0	0/ 3	0/ 0
Promyelocyten	0/ 11	0/ 18	0/ 8
Myelocyten	0/224	7/337	3/174
Metamyelocyten	11/119	25/154	11/173
Stabkernige	37/ 70	38/145	54/133
Segmentkernige	42/296	78/233	49/226
Gesamtindex	23/720	33/890	29/714





Fall IV: J. O.

——— Kontrolle

— — — — — Triamcinolon

Abb. 4

Fall IV: I. O., 83 Jahre

Klinische Diagnose: Sideroachrestische Anaemie.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: Valium^{R} 10 mg, Novalgin^{R} 20 Tropfen, Lanicor^{R} 0,75 mg/die.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion: Hb = 5,0 g%, Erythrocyten = 1,53 Mill./cmm, Thrombocyten = 242.000/cmm, Hb_E = 32,9 pg, Fe im Serum = 215,8 gamma-%, Leukocyten = 7.200/cmm, Basophile = 1 %, Eosinophile = 3 %, Stabkernige = 3 %, Segmentkernige = 70 %, Lymphocyten = 17 %, Monocyten = 6 %.

Sternalpunktion: Stark vermehrte und linksverschobene Erythropoese mit Vermehrung großer und kleiner Retikulumzellen. Massenhaft Eisenspeicherung im Retikulum.

Beim Betrachten der Reifungskurve dieses Falles zeigt sich in der Erythropoese nach 24 Stunden Bebrütungszeit eine deutliche Vermehrung der reifen Erythroblasten, aber auch der Proerythroblasten im Triamcinolon-Präparat. Das Kontrollpräparat weist zu diesem Zeitpunkt fast 50 % weniger reife Zellen auf als das Hormonpräparat. Auch nach 48 Stunden findet sich eine erhöhte Anzahl reifer Zellen im Hormonausstrich, nach 72 Stunden ebenfalls (Abbildung 4).

In der Erythropoese ist es durch Triamcinolon zu einer signifikanten Förderung der Zellausreifung gekommen (Tabelle 15).

In der Granulocytopoese zeigt die Reifungskurve nach 24 und 72 Stunden in den Präparaten mit Hormonzusatz weniger reife Zellen als in den Kontrollkulturen, besonders die

Myeloblasten sind wie die Proerythroblasten stark vermehrt. Erst zum Zeitpunkt von 48 Stunden reifen die Hormonkulturen stärker aus (Abbildung 4). Die unter Hormoneinfluß verminderte Zellausreifung ist statistisch signifikant (Tabelle 15).

Der G/E-Index ist nach 24 und 72 Stunden in den Kulturen mit Triamcinolon gegenüber den Kontrollen kaum erhöht. Die unter Hormoneinfluß starke Indexerniedrigung nach 48 Stunden ist nicht zu verwerten, da der entsprechende Kontrollwert stark herausfällt (Tabelle 5).

Der Mitoseindex ist unter Triamcinolon-Einfluß in der roten Reihe gleich Null, während das Hormon in der weißen Reihe nur eine Verringerung der Mitoseaktivität nach 48 und 72 Stunden bewirkt (Tabelle 6 und 7).

Zusammenfassend läßt sich für die Erythropoese und für die Granulocytopoese - hier erst nach 48 Stunden - eine Hemmung in der Regeneration feststellen. Dagegen wird die Zellausreifung in der Erythropoese stark gefördert - dem entspricht das Ansteigen des G/E-Index'. In der Granulocytopoese ist keine einheitliche Wirkung des Triamcinolons auf die Zellausreifung zu erkennen.

Es wurden für diesen Fall keine ALP-Ausstriche angefertigt.

Fall V: W. D., 42 Jahre

Klinische Diagnose: Plasmocytom (Typ gamma-A)

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion: Vigantol^{R} 10 Tropfen, Ascorbinsäure 1,0 g/die. Ca. 3 Monate vor der Sternalpunktion beginnend 2 mal pro Woche 250 mg Stilbamidin.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion: Hb = 13,2 g%, Erythrocyten = 4,13 Mill./cmm, Thrombocyten = 133.000/cmm, Hb_E = 31,6 pg, Leukocyten = 3.700/cmm, Eosinophile = 8 %, Stabkernige = 6 %, Segmentkernige = 54 %, Lymphocyten = 28 %, Monocyten = 4 %.

Sternalpunktion: Plasmazellvermehrung auf etwa 20 % der Gesamtzellen mit atypischen Plasmazellen wie bei Plasmocytom; ohne wesentliche Verdrängung der normalen Haematopoese. Auffallend: Plasmazellen mit Stilbamidingranula.

Es wurden für diesen Fall keine Giemsa-Präparate ausgewertet. Die Untersuchung erfolgte nur an ALP-Ausstrichen.

Die Auswertung der ALP-Gesamtindices ergibt für diesen Fall in den Kontrollpräparaten für die Retikulumzellen nach 24 Stunden die geringste ALP-Aktivität, ausgedrückt durch den Gesamtindex. Danach erfolgt ein Ansteigen des Index, bei 48 Stunden wird der höchste Wert erreicht. Nach 72 Stunden liegt der ALP-Gesamtindex etwas niedriger, jedoch nicht unter dem des 24-Stunden-Ausstriches.

Die Präparate mit Triamcinolon-Zusatz weisen im Vergleich mit den Kontrollen eine höhere Aktivität der Phosphatase auf.

Der Gesamtindex für die retikulären Zellen liegt bei 24 Stunden am niedrigsten, erreicht dann bei 48 Stunden sein Maximum und fällt nach 72 Stunden wieder etwas ab.

In der Granulocytopoese steigt der Gesamtindex der Kontrollausstriche von 0 über 24 bis 48 Stunden ständig an, so daß der höchste Wert nach 2 Tagen Bebrütungszeit erreicht wird: Hier ist also die Phosphatase-Aktivität am größten. Der ALP-Index nach 72 Stunden liegt wieder etwas niedriger, er sinkt aber nicht unter den 24-Stunden-Wert.

In der Hormonkultur ergibt sich das gleiche Bild. Die Fermentaktivität liegt unter Triamcinolon-Zusatz geringfügig höher (Tabelle 4).

Tabelle 4: ALP-Indices/zugehörige Zellzahlen

ALP-Indices bei den Kontrollen

	0 h	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	19/140	33/ 67	21/ 91	56/ 45
kl. Retikulumzellen	12/189	15/218	53/351	26/405
phag. Retikulumzellen	0/ 15	0/ 35	0/ 51	0/ 51
Gesamtindex	14/344	18/320	42/493	22/501
Myeloblasten	0/ 3	0/ 5	0/ 0	0/ 0
Promyelocyten	0/ 12	32/ 25	30/ 17	10/ 39
Myelocyten	23/198	65/256	116/216	50/172
Metamyelocyten	45/162	59/144	120/ 60	96/ 67
Stabkernige	56/167	87/168	154/100	130/ 75
Segmentkernige	65/152	85/148	130/ 95	142/137
Gesamtindex	45/694	70/746	124/488	91/490

ALP-Indices bei Triamcinolon-Zusatz

	24 h	48 h	72 h
gr. Retikulumzellen	53/ 57	155/ 51	61/ 56
kl. Retikulumzellen	39/181	49/235	37/255
phag. Retikulumzellen	0/ 47	0/ 0	18/ 45
Gesamtindex	35/285	68/286	39/356
Myeloblasten	0/ 0	0/ 0	0/ 0
Promyelocyten	0/ 5	82/ 11	25/ 16
Myelocyten	66/249	143/168	90/146
Metamyelocyten	84/111	96/ 51	75/ 78
Stabkernige	74/168	170/ 72	96/168
Segmentkernige	97/146	150/ 88	102/228
Gesamtindex	76/677	142/390	99/636

Der Mittelwert der G/E-Indices (Tabelle 5) der Kulturen ohne Zusatz liegt nach 24 Stunden unter dem Wert von 0 Stunden; nach 48 und 72 Stunden findet man etwa gleich hohe Werte, die aber unter dem 24-Stunden-Wert liegen. Das Ergebnis bei 48 Stunden wird in den Kontrollen durch den extrem hohen Wert in Fall IV verfälscht. Diese Werte sind daher in Klammern gesetzt.

Die Mittelwerte der G/E-Indices der Triamcinolon-Präparate zeigen eine andere Tendenz: Nach 24 Stunden Kultivierungszeit liegt der Wert geringfügig höher als der des entsprechenden Kontrollausstriches. Im Mittel steigt der G/E-Index dann über 48 bis 72 Stunden weiter an, so daß nach 72 Stunden der höchste Wert zu finden ist.

Die höheren G/E-Indices in den Zusatzpräparaten lassen sich durch die Hemmung der Mitoserate der roten Reihe erklären.

Tabelle 5: G/E-Indices

	Kontrollen				Triamcinolon		
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	1,12	0,82	0,58	0,41	0,73	0,53	1,15
II	3,78	2,85	3,68	2,56	2,61	2,91	5,70
III	1,39	2,68	1,22	0,50	3,26	2,62	1,27
IV	2,73	1,87	(17,6)	3,74	2,08	(5,25)	3,76
Summe	9,02	8,22	5,48 (23,08)	7,21	8,68	6,06 (11,31)	11,88
Mittelwert	2,26	2,06	1,83 (5,77)	1,80	2,17	2,02 (2,83)	2,97

Um die Auswirkung des zugesetzten Triamcinolons auf die Knochenmarkregeneration zu prüfen, vergleicht man die Mitoseindices der Kontrollpräparate und der Hormonkulturen (Tabelle 6 und 7). Die Mittelwerte dieser Mitoseindices ergeben folgendes Bild:

Der 24-Stunden-Wert der Kontrollpräparate liegt über dem Index von 0 Stunden. Nach zweitägiger Kultivierungszeit sinkt der Index stark ab, steigt aber nach 72 Stunden wieder an, so daß er den Wert von 0 Stunden etwa erreicht.

In den Hormonpräparaten waren in der roten Reihe nur bei einem Fall Mitosen zu sehen. Der Gesamtindex liegt dadurch weit unter dem des entsprechenden Kontrollwertes. Die Präparate nach 48 und 72 Stunden zeigen überhaupt keine Mitosen mehr.

Das Triamcinolon übt also eine stark hemmende Wirkung auf die Regeneration der Erythropoese aus; die Mitoseabnahme ist signifikant (Tabelle 15).

In der Granulocytopoese sinkt in den Kontrollen der Mitoseindex von 0 über 24 bis 48 Stunden ab. Im 72-Stunden-Ausstrich steigt die Mitoserate wieder an; der Index liegt hier am höchsten von allen vier Kontrollpräparaten. Man sieht hier die gleiche Tendenz wie in den Kontrollen der Erythropoese.

Die Mittelwerte der Hormonpräparate ergeben annähernd das gleiche Bild wie die Kontrollindices, die Werte liegen aber deutlich tiefer.

Auch in der weißen Reihe sieht man die mitosehemmende Wirkung des zugesetzten Triamcinolons, denn die Mitoserate liegt unter der der Leerversuche. Zum Zeitpunkt von 72 Stunden ist die Mitoseabnahme signifikant (Tabelle 15).

Tabelle 6: Mitoseindices für die Erythropoese in %o

	Kontrollen				Triamcinolon		
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	21,4	63,9	0,0	34,0	0,0	0,0	0,0
II	40,0	26,2	36,2	0,0	0,0	0,0	0,0
III	28,4	9,85	15,3	26,2	10,7	0,0	0,0
IV	12,0	10,7	0,0	26,7	0,0	0,0	0,0
Summe	101,8	110,65	51,5	86,9	10,7	0,0	0,0
Mittel-wert	20,5	27,66	12,88	21,7	2,68	0,0	0,0

Tabelle 7: Mitoseindices für die Granulocytopoese in %o

	Kontrollen				Triamcinolon		
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	29,2	11,4	5,1	33,5	6,47	0,0	11,3
II	6,85	15,0	5,3	13,6	4,6	5,45	0,0
III	8,4	10,9	3,9	23,9	8,47	4,99	4,9
IV	9,55	10,5	4,42	7,8	11,3	2,21	0,0
Summe	54,00	47,8	18,72	78,8	30,84	12,65	16,2
Mittel-wert	13,5	11,95	4,68	19,7	7,71	3,16	4,05

Tabelle 8: ALP-Gesamtindices der Retikulumzellen

	Kontrollen				Triamcinolon		
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	3/586	5/274	161/137	11/580	32/775	37/624	26/602
II	9/228	13/433	20/436	167/551	77/402	23/373	58/611
III	10/194	14/220	18/386	3/450	15/384	30/196	6/280
V	14/344	18/320	42/493	22/501	35/285	68/286	39/256
Summe	36/1352	50/1247	241/1452	203/2082	159/1846	158/1479	129/1749
Mittelwert	9/338	13/312	60/363	51/521	40/462	40/370	32/487

Die Aktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase unter Triamcinolon zeigt bei den Retikulumzellen in den Fällen III und V zu allen Zeiten eine Steigerung. In Fall I ist die Fermentaktivität in den Zusatzkulturen nur nach 24 und 72 Stunden größer als in den Kontrollen. Bei Fall II liegt die Aktivitätssteigerung unter Triamcinolon in den 24- und 48-Stunden-Kulturen. Die Steigerung der Fermentaktivität kommt in den Mittelwerten wegen des unterschiedlichen Verhaltens in Fall I und II unter Triamcinolon-Zusatz nicht so klar zum Ausdruck.

Tabelle 9: ALP-Gesamtindices der Granulocyten

Fall	Kontrollen 0 h	24 h	48 h	72 h	Triamcinolon 24 h	48 h	72 h
I	13/429	38/750	140/734	77/388	41/300	159/484	66/471
II	17/884	101/571	134/638	240/505	125/613	101/663	189/406
III	3/815	18/784	28/726	4/634	23/720	33/890	29/714
V	45/694	70/746	124/488	91/490	76/677	142/390	99/636
Summe	78/2822	227/2851	426/2586	412/2017	265/2310	435/2427	383/2227
Mittelwert	20/706	57/713	107/647	103/504	66/578	108/607	96/557

Bei den Granulocyten sieht man in den Kulturen unter Triamcinolon-Zusatz in den Fällen III und V zu allen Zeiten eine deutliche Steigerung der Aktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase. In Fall I liegt die Steigerung nur in den Werten für 24 und 48 Stunden in den Zusatzpräparaten. Fall II zeigt unter Triamcinolon nur eine Aktivitätssteigerung nach 24 Stunden, während nach 48 und 72 Stunden die ALP-Indices in den Kontrollen höher liegen. Im Mittelwert kommt die aktivitätssteigernde Wirkung des Triamcinolons durch den unterschiedlichen Einfluß auf die Phosphatase in den Fällen I und II nicht so deutlich zum Ausdruck.

Tabelle 10: Anzahl der großen Retikulumzellen in %

	Kontrollen				Triamcinolon		
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	4,2	1,0	1,9	4,8	2,6	1,9	1,6
II	5,1	13,2	2,2	4,9	0,7	2,9	2,5
III	3,4	5,2	4,0	7,0	2,0	4,4	3,6
IV	7,0	11,0	7,7	16,3	4,3	4,1	5,1
Summe	19,7	30,4	15,8	33,0	9,6	13,3	12,8
Mittel-wert	4,9	7,6	4,0	8,3	2,4	3,6	3,2

Tabelle 11: Anzahl der kleinen Retikulumzellen in %

	Kontrollen				Triamcinolon		
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	15,6	6,4	17,3	10,8	11,7	33,4	31,3
II	5,8	0,5	13,9	6,4	6,2	10,8	11,8
III	13,5	21,6	15,6	34,5	7,5	15,1	10,4
IV	6,4	15,0	22,7	23,3	13,6	14,6	17,6
Summe	41,1	43,5	69,5	75,0	39,0	73,9	71,1
Mittel-wert	10,3	10,9	17,4	18,8	9,8	18,5	17,8

Tabelle 12: Anzahl der phagocytierenden Retikulumzellen in %

Fall	Kontrollen				Triamcinolon		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	3,2	1,5	1,6	8,1	4,3	1,3	1,4
II	0,2	0,1	2,9	2,0	0,3	2,9	2,5
III	0,8	3,2	0,6	4,5	0,4	2,3	1,5
IV	0,4	1,7	0,9	2,4	0,7	3,9	0,6
Summe	4,6	6,5	6,0	17,0	5,7	10,4	6,0
Mittel-wert	1,2	1,6	1,5	4,3	1,4	2,6	1,5

Um eine Antwort auf das Verhalten der Retikulumzellen unter Triamcinolon-Einfluß zu finden, vergleicht man die Mittelwerte der Kontrollpräparate und der Triamcinolon-Ausstriche. Für die großen Retikulumzellen findet man in den Kontrollausstrichen bei 72 Stunden die größte Zellzahl, im Zusatzpräparat verringert sich die Zellzahl zu diesem Zeitpunkt. Die Differenz der Werte bei 24 und 72 Stunden ist hoch signifikant (Tabelle 10 und Abbildung 5).

Bei den kleinen Retikulumzellen ergibt sich ein ähnliches Bild: Bei 72 Stunden kommt es durch das Triamcinolon zu einem Absinken der Kurve bzw. des Mittelwertes, während bei den Kontrollen zu dieser Zeit eine steigende Tendenz zu bemerken ist (Tabelle 11 und Abbildung 5). Auch hier liegt ein signifikanter Unterschied vor (Tabelle 15).

Ebenfalls für die phagocytierenden Retikulumzellen trifft zu, daß es durch das Corticosteroid zu einer Verminderung der relativen Zellzahlen bei 72 Stunden gekommen ist, während die Kontrollwerte eine Vermehrung zur gleichen Zeit erfahren. Die Werte sind hoch signifikant (Tabelle 12 und Abbildung 5).

Abb. 5

Mittelwerte der RetiKulumzellen

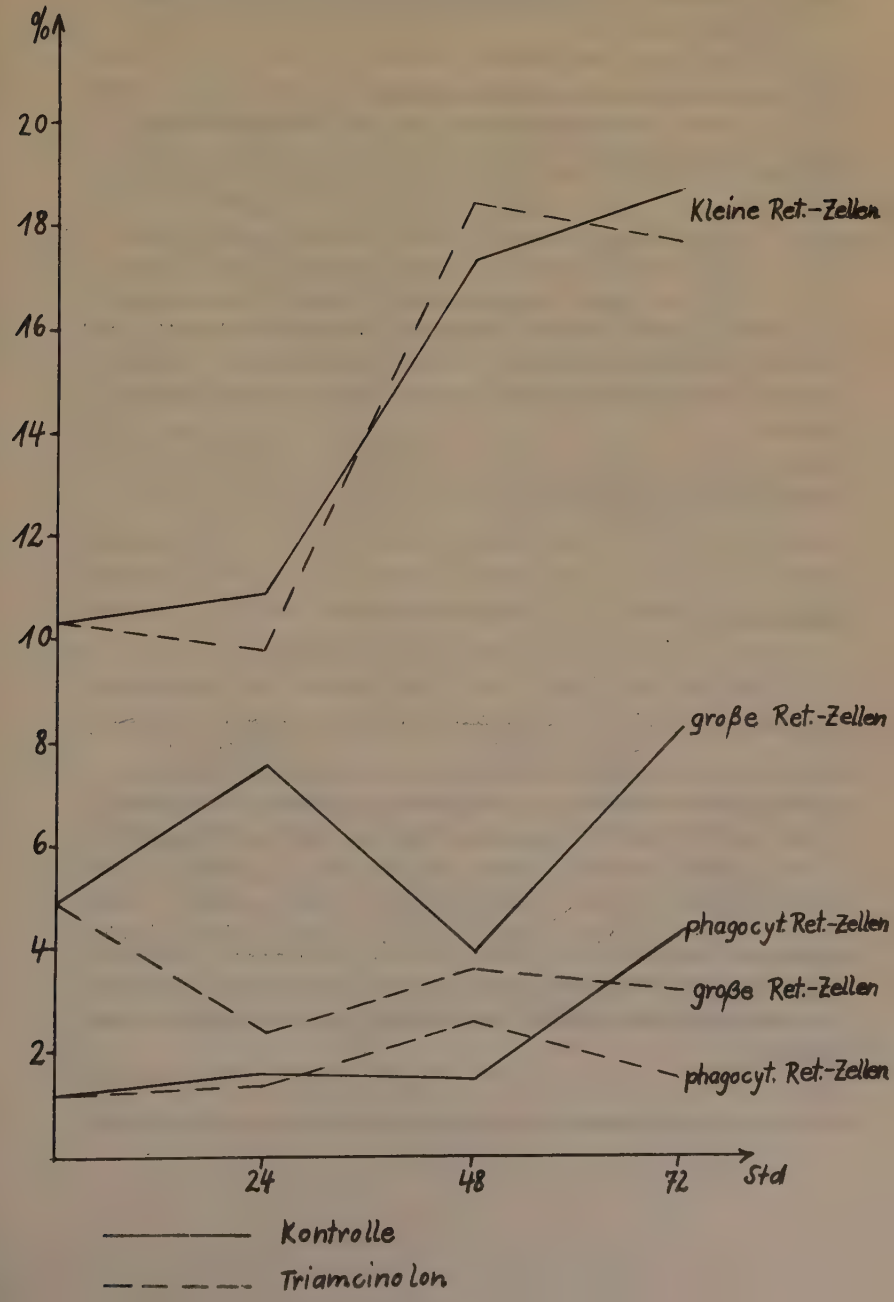


Tabelle 13: Anzahl der Lymphoblasten in %

Fall	Kontrollen				Triamcinolon		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	0,27	2,03	1,92	3,2	0,15	3,58	14,4
II	1,25	4,47	4,53	2,68	1,67	1,08	0,8
III	0,0	1,51	1,1	0,14	0,48	0,79	0,4
IV	0,98	1,85	2,39	2,66	2,08	1,26	1,37
Summe	2,50	9,86	9,94	8,68	4,38	6,71	16,97
Mittel-wert	0,63	2,47	2,49	2,17	1,1	1,68	4,24

Tabelle 14: Anzahl der Lymphocyten in %

Fall	Kontrollen				Triamcinolon		
	0 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
I	3,19	20,9	9,0	12,8	3,96	12,2	10,5
II	4,29	5,42	10,1	12,05	10,4	8,37	9,47
III	8,2	2,36	5,52	3,84	1,96	0,59	2,48
IV	2,04	3,0	5,22	3,04	4,88	2,62	11,3
Summe	17,72	31,68	29,84	31,73	21,20	23,78	33,75
Mittel-wert	4,43	7,92	7,46	7,93	5,3	5,95	8,44

Die Mittelwerte der Lymphoblastenzahlen (Tabelle 13) steigen von 0 auf 24 Stunden in den Kontrollen an und verbleiben in den folgenden Ausstrichen ungefähr bei diesem Wert. In den Zusatzpräparaten findet man nach 24 und 48 Stunden eine geringere Zellzahl als bei den Kontrollen. Bei 72 Stunden ist der Mittelwert - durch die starke Zellvermehrung in einem Fall - erhöht.

Die Lymphocyten (Tabelle 14) zeigen die gleiche Tendenz: Anstieg bei 24 Stunden und Halten des Wertes über 48 bis 72 Stunden. Im Hormonzusatzpräparat liegen die Werte zunächst etwas niedriger, steigen nach 72 Stunden jedoch ebenfalls über die der Kontrollwerte. Dieser Anstieg ist wiederum auf die signifikante Zellzunahme in einem der 4 Fälle zurückzuführen.

Die Mittelwerte der Lymphopoese zeigen in der graphischen Darstellung ganz deutlich die Abnahme sowohl der Lymphoblasten als auch der Lymphocyten in den Zusatzpräparaten von 24 und 48 Stunden (Abbildung 6). Nach 72 Stunden steigt die Kurve dann an.

Die karyologische Kurve (Abbildung 7) ist für die Erythropoese nicht darstellbar, da in den Zusatzpräparaten nur 2 Mitosen zu verzeichnen waren (Tabelle 6).

Für die Granulocytopoese findet man eine karyologische Kurve in den Kontrollpräparaten, die einen Anstieg von den Prophasen über die frühen Metaphasen bis hin zu den späten Metaphasen zeigt, so daß die Kurve hier ihren Gipfel erreicht; danach sinkt sie wieder ab. Die Rekonstruktionsphasen bringen noch einmal einen Anstieg.

In den Zusatzpräparaten erfährt die Kurve bis zu den späten Metaphasen einen steilen Anstieg, um danach auf 0

Abb. 6

Mittelwerte der lymphatischen Zellen

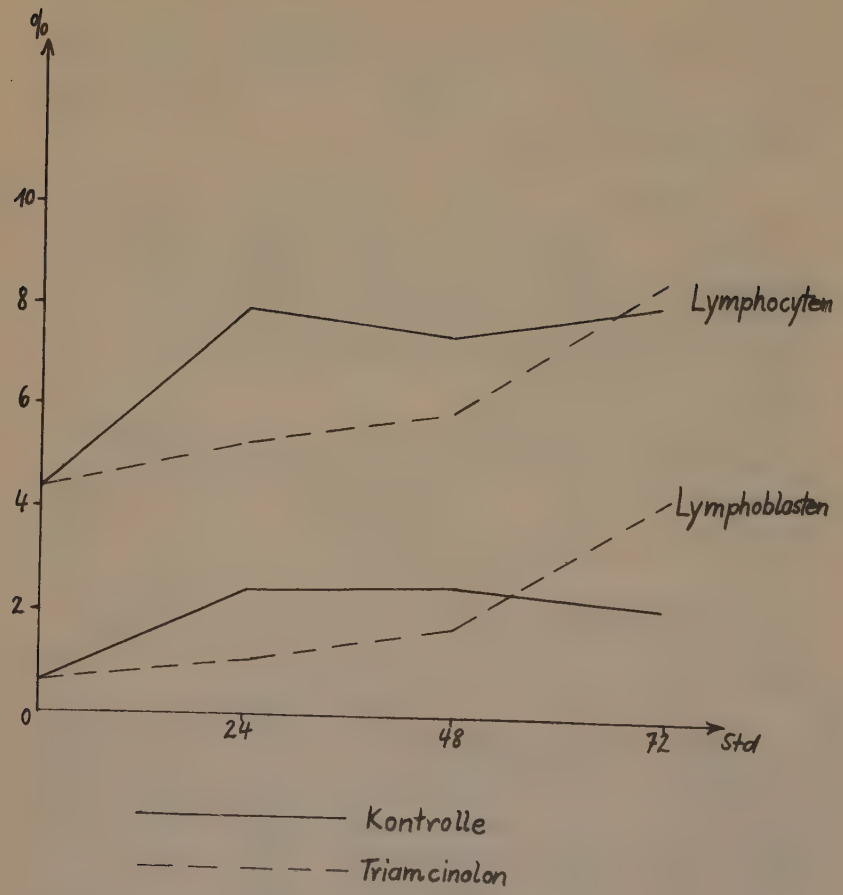
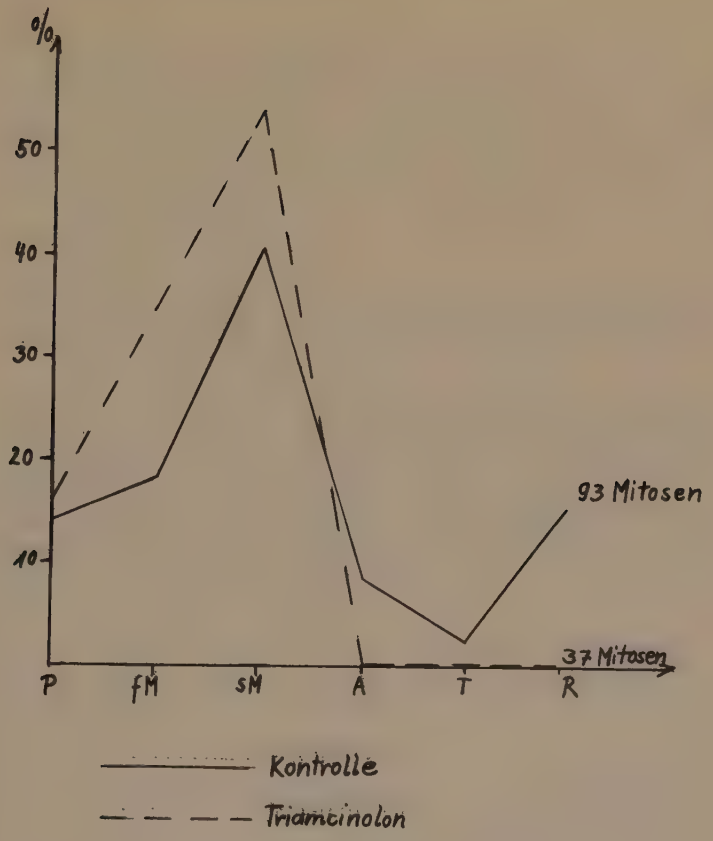


Abb. 7

Karyologische Kurve der weißen Reihe



abzusinken. Da keine Telo- und Rekonstruktionsphasen in der weißen Reihe auftraten, bleibt die Kurve bei 0.

STATISTISCHE AUSWERTUNG

Mit Hilfe des χ^2-Testes soll entschieden werden, ob die Differenzen zwischen den Kontrollkulturen und den Kulturansätzen mit Triamcinolon als zufällig anzusehen oder ob sie statistisch als signifikant zu bezeichnen sind.

Nähere Erklärungen des χ^2-Testes findet man bei BELITZ[2] und CAVALLI-SFORZA[6].

Der Test ist ebenfalls zur Signifikanzberechnung der retikulären, lymphopoetischen Zellen und der Mitoseindices herangezogen worden.

Aus den anschließenden Tabellen (Tabelle 15) sind die errechneten χ^2-Werte für die entsprechenden Stichproben zu entnehmen. Aus einer logarithmischen Tafel liest man die zu den entsprechenden χ^2-Werten mit den zugehörigen Freiheitsgraden passenden Wahrscheinlichkeitswerte p ab. Bei allen p-Werten, die kleiner als 0,01 sind, spricht man in der Statistik von Signifikanz.

Beispiel für die Signifikanzberechnung

Fall I Erythropoese 24 h

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	Kontr. + Zusatz	P
PE	6	64	70	0,0426
bE	18	65	83	0,0512
pE	49	135	184	0,1120
oE	21	52	73	0,0445
rE	681	552	1233	0,7500
	$n_1 = 775$	$n_2 = 868$	$n_{ges} = 1643$	$\approx 1,0000$

Zelltyp	$E_{kontr.}$	E_{Zusatz}	$(B-E)^2/E_{kontr.}$	$(B-E)^2/E_{Zusatz}$
PE	33,015	36,98	22,10	21,38
bE	39,68	44,44	11,82	15,78
pE	86,80	97,22	16,50	23,85
oE	34,488	40,83	5,10	9,65
rE	581,25	651,00	17,20	1,385
	$n_1 \approx 775$	$n_2 \approx 868$	$\chi^2_4 = 72,72$	$\chi^2_4 = 72,045$

$$\chi^2 = \int \frac{(B-E)^2}{E}$$

	$(B-E)^2/E_{ges}$
PE	43,48
bE	27,60
pE	40,35
oE	14,75
rE	18,585
	$\chi^2_4 = 144,765$

$p < 10^{-10}$ signifikant

E = Erwartungswert = $P \cdot n_1 = 0,426 \cdot 775 = 33,015$

B = Beobachtungswert = Kontrolle

P = Wahrscheinlichkeitswert = $\frac{\text{Kontr.} + \text{Zusatz}}{n_{gesamt}} = \frac{70}{1643} = 0,0426$

Tabelle 15. 1

χ^2 - Test für Fall I rote Reihe

	24 h				72 h		
Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
PE	6	64	43,48	PE	8	20	19,64
bE	18	65	27,60	bE	20	22	8,02
pE	49	135	40,35	pE	16	39	41,45
oE	21	52	14,75	oE	15	33	40,60
rE	681	552	16,58	rE	792	280	13,52
	$n_1 = 775$	$n_2 = 868$	$\chi^2_4 = 144,76$		$n_1 = 851$	$n_2 = 394$	$\chi^2_4 = 123,24$

$p < 10^{-10}$ (signifikant) $p < 10^{-10}$ (signifikant)

weiße Reihe

	24 h				48 h		
Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Myeloc.	94	138	7,98	Prony	49	56	8,36
Stabk.	63	49	2,20	Eos. M.	91	51	0,71
Segm.	60	38	5,11	Stabk.	46	21	2,40
Eos. M	58	83	0,077	Segm.	26	29	4,02
Rest	355	326	1,319	Rest	289	170	1,21
	$n_1 = 630$	$n_2 = 634$	$\chi^2_4 = 16,686$		$n_1 = 501$	$n_2 = 327$	$\chi^2_4 = 16,7$

$p = 2,5 \cdot 10^{-3}$ (signifik) $p = 2,3 \cdot 10^{-3}$ (signifik.)

	72 h		
Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Myeloc.	36	91	15,75
Eos. M.	81	67	4,67
Stabk.	36	31	1,65
Segm.	84	17	5,63
Eos. S.	52	33	8,90
Rest	95	213	27,40
	$n_1 = 384$	$n_2 = 452$	$\chi^2_5 = 64,0$

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

Tabelle 15.2

Fall II rote Reihe

24 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
bE	40	116	11,45
pE	57	81	0,35
rE	134	162	5,13
Rest	56	92	6,38
	$n_1 = 287$	$n_2 = 451$	$\chi^2_3 = 23,31$

$p = 4 \cdot 10^{-5}$ (signifik.)

48 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
bE	33	54	0,83
pE	31	70	6,68
rE	210	223	4,58
Rest	19	37	1,88
	$n_1 = 293$	$n_2 = 384$	$\chi^2_3 = 13,97$

$p = 3 \cdot 10^{-3}$ (signifik)

72 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
PE	21	20	3,85
bE	16	28	15,42
pE	57	14	6,50
Rest	321	155	0,67
	$n_1 = 415$	$n_2 = 217$	$\chi^2_3 = 26,44$

$p = 8 \cdot 10^{-6}$ (signifik)

Tabelle 15.3

Fall III

rote Reihe

24 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
bE	107	83	0,839
pE	106	75	11,58
rE	61	244	83,10
Rest	92	29	43,80

$n_1 = 366$ $n_2 = 431$ $\chi^2_3 = 139,32$

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

48 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
PE	16	20	3,23
bE	80	29	9,12
pE	145	41	27,22
oE	20	18	0,65
rE	387	339	1,04

$n_1 = 648$ $n_2 = 447$ $\chi^2_4 = 41,266$

$p = 3 \cdot 10^{-8}$ (signifikant)

72 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
bE	39	30	1,3
oE	40	54	2,455
Rest	641	643	0,015

$n_1 = 720$ $n_2 = 727$ $\chi^2_2 = 3,776$

$p = 0,16$ (nicht signifik.)

weiße Reihe

24 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Promy.	128	166	1,207
Myeloc.	265	295	12,5
Stab k.	68	175	15,25
Rest	484	767	1,135

$n_1 = 945$ $n_2 = 1403$ $\chi^2_3 = 30,09$

$p = 1 \cdot 10^{-6}$ (signifik.)

48 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Promy.	52	51	4,19
Myeloc.	212	218	14,53
Meta M.	207	89	108,0
Stab k.	129	123	12,08
Segm.	126	606	26,44
Rest	67	84	0,98

$n_1 = 793$ $n_2 = 1171$ $\chi^2_5 = 166,22$

$p < 10^{-10}$ (signifik.)

72

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Myeloc.	100	155	15,98
Eos. M.	50	58	15,82
Meta M.	44	160	4,11
Stab k.	24	148	16,65
Segm.	107	318	1,99
Rest	31	79	0,004

$n_1 = 356$ $n_2 = 918$ $\chi^2_5 = 53,55$

$p = 5 \cdot 10^{-10}$ (signifikant)

Tabelle 15.4

Fall IV — rote Reihe

24 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
PE	92	157	13,53
bE	101	66	10,07
pE	158	71	31,50
oE	21	20	0,14
rE	91	183	24,50

$n_1 = 463$ $n_2 = 497$ $\chi^2_4 = 79,74$

$p < 10^{-10}$ (signifik.)

48 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
PE	12	59	1,065
bE	19	61	0,146
pE	16	29	4,265
oE	12	11	12,31
rE	9	81	6,47

$n_1 = 68$ $n_2 = 241$ $\chi^2_4 = 24,25$

$p = 4 \cdot 10^{-3}$ (signifik.)

72 h

Zelltyp	kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
PE	32	23	29,7
bE	73	17	42,8
pE	36	54	1,6
oE	9	11	0,012
rE	81	161	18,23

$n_1 = 231$ $n_2 = 266$ $\chi^2_4 = 92,37$

$p < 10^{-10}$ (signifik)

weiße Reihe

24 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Promy.	80	241	55,6
Eos. M.	31	102	26,6
Stabk.	101	44	33,7
Segm.	170	74	56,38
Rest	486	572	0,04

$n_1 = 868$ $n_2 = 1033$ $\chi^2_4 = 171,3$

$p < 10^{-10}$ (signifik)

72 h

Zelltyp	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
Promy.	140	136	2,105
Myeloc	329	539	24,60
Eos. M.	14	41	9,65
Meta M	243	206	11,33
Stabk.	46	9	30,72
Segm	42	20	11,49
Rest	50	49	0,73

$n_1 = 864$ $n_2 = 1000$ $\chi^2_6 = 90,62$

$p < 10^{-10}$ (signifik.)

Tabelle 15. 5

χ^2 - Test für die großen Retikulumzellen

24 h				72 h			
Fall	Kontr	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Fall	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
I	20	51	85,8	I	99	34	2,02
II	265	14	55,66	II	100	50	28,05
III	99	41	1,795	III	148	73	37,7
IV	220	89	3,125	IV	343	101	45,5
	$n_1 = 604$	$n_2 = 195$	$\chi^2_3 = 146,38$		$n_1 = 690$	$n_2 = 258$	$\chi^2_3 = 113,27$
	$p < 10^{-10}$ (signifik.)				$p < 10^{-10}$ (signifik.)		

Kleine Retikulumzellen 72 h				phagocytierende Retikulumzellen 72 h			
Fall	kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Fall	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
I	223	681	265,0	I	168	30	11, 135
II	131	239	39,5	II	40	50	41, 30
III	735	208	255,0	III	93	30	0,109
IV	492	348	15,25	IV	50	11	1,861
	$n_1 = 1581$	$n_2 = 1476$	$\chi^2_3 = 574,75$		$n_1 = 351$	$n_2 = 121$	$\chi^2_3 = 54,40$
	$p < 10^{-10}$ (signifik.)				$p < 10^{-10}$ (signifik.)		

χ^2 - Test für

Lymphoblasten 72 h				Lymphocyten 72 h			
Fall	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$	Fall	Kontr.	Zusatz	$(B-E)^2/E$
I	66	313	41,6	I	264	228	6,17
II	54	16	61,9	II	242	191	10,07
III	3	8	0,16.1	III	74	50	6,48
IV	56	27	47,9	IV	64	223	78,60
	$n_1 = 179$	$n_2 = 364$	$\chi^2_3 = 151,56$		$n_1 = 644$	$n_2 = 692$	$\chi^2_3 = 101,32$
	$p < 10^{-10}$ (signifik.)				$p < 10^{-10}$ (signifik.)		

Tabelle 15. 6

Anwendung des χ^2-Testes für die Signifikanzberechnung der Mitosen (Rechnungsbeispiel)

24h rote Reihe

	Ko	Zu
I	6 – 775	0 – 868
II	4 – 287	0 – 451
III	3 – 366	2 – 431
IV	4 – 463	0 – 497
	$B_M = 17$ $B_{M+N} = 1891$	$B_M = 2$ $B_{M+N} = 2247$

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	17	1874	1891	8,7	1882,3
Zu	2	2245	2247	10,3	2236,7
Su	19		4138		

Ko = Kontrolle

Zu = Zusatz von Triamcinolon

Su = Summe

B_M = Beobachtungswert Mitosen

B_N = Beobachtungsw. „Nicht-Mitosen"

E_M = Erwartungswert Mitosen

E_N = Erwartungsw. „Nicht-Mitosen"

B_{M+N} = Beobachtungsw. Mitosen + „Nicht-Mitosen"

E_M = Summe d. Mitosen / Summe d. Gesamtzellzahl multipliziert mit B_{M+N}

$E_N = B_{M+N} - E_M$

p = Wahrscheinlichkeitswert

Ko:

$$E_M = \frac{19 \cdot 1891}{4138} = 8{,}7$$

$$E_N = 1891 - 8{,}7 = 1882{,}3$$

Zu:

$$E_M = \frac{19 \cdot 2247}{4138} = 10{,}3$$

$$E_N = 2247 - 10{,}3 = 2236{,}7$$

Ko: $B_M - E_M = 8{,}3$ $\quad \frac{(B-E)^2}{E} = \frac{69}{8{,}7} = 7{,}94$

$B_N - E_N = 8{,}3$ $\quad \frac{(B-E)^2}{E} = \frac{69}{1882{,}3} = 0{,}037$

Zu: $B_M - E_M = 8{,}3$ $\quad \frac{(B-E)^2}{E} = \frac{69}{10{,}3} = 6{,}7$

$B_N - E_N = 8{,}3$ $\quad \frac{(B-E)^2}{E} = \frac{69}{2236{,}7} = 0{,}031$

$$\chi^2 = \sum \frac{(B-E)^2}{E}$$

$$\chi^2_1 = 14{,}708$$

$$p = 1{,}5 \cdot 10^{-4}$$

Tabelle 15. 7

Signifikanzberechnung der Mitosen

24 h rote Reihe

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	17	1874	1891	8,7	1882,3
Zu	2	2245	2247	10,3	2236,7
Su	19		4138		

$\chi^2_1 = \int \frac{(B-E)}{E} = 14,708$

$p = 1,5 \cdot 10^{-4}$ (signifikant)

24 h weiße Reihe

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	27	2200	2227	21,6	2205,4
Zu	23	2901	2924	28,4	2895,6
Su	50		5151		

$\chi^2_1 = \int \frac{(B-E)^2}{E} = 2,178$

$p = 0,14$ (nicht signifikant)

48 h

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	7	1866	1873	3,7	1869,3
Zu	0	1690	1690	3,2	1686,8
Su	7		3563		

$\chi^2_1 = \int \frac{(B-E)^2}{E} = 6,311$

$p = 0,013$ (fast signifikant!)

48 h

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	12	2555	2567	11,1	2555,9
Zu	9	2280	2289	9,9	2279,1
Su	21		4856		

$\chi^2_1 = \int \frac{(B-E)^2}{E} = 0,155$

$p > 0,1$ (nicht signifikant)

72 h

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	10	2207	2217	5,8	2211,2
Zu	0	1604	1604	4,2	1599,8
Su	10		3821		

$\chi^2_1 = \int \frac{(B-E)^2}{E} = 7,259$

$p = 0,006$ (signifikant)

72 h

	B_M	B_N	B_{M+N}	E_M	E_N
Ko	27	1824	1851	15,8	1835,2
Zu	11	2591	2602	22,2	2579,8
Su	38		4453		

$\chi^2_1 = \int \frac{(B-E)^2}{E} = 13,666$

$p = 2 \cdot 10^{-4}$ (signifikant)

Tabelle 15. 8

χ^2 - Test für die Verteilung der Mitosen

	B_{FM+SM}	B_{PATR}	$B_{FM+SM+PATR}$	E_M	E_N
Kontr.	55	38	93	61,4	31,6
Zusatz	31	6	37	24,4	12,6
Summe	86		130		

$$\chi^2_1 = \sum \frac{(B-E)^2}{E} = 7,21$$

$$p = 6,5 \cdot 10^{-3} \quad \text{(signifikant)}$$

B_{FM+SM} = Beobachtungswert frühe und späte Metaphasen

B_{PATR} = Beobachtungswert Pro-, Ana-, Telo- und Rekonstruktionsphasen

Tabelle 15.9

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Für unsere Versuche wurde Knochenmark von 5 Patienten verwendet. Je 4 Knochenmarkproben wurden auf die Proliferationsaktivität in vitro und 4 Proben auf die Veränderungen der Aktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase untersucht.

Zur Zeit der Sternalpunktion wurde in keinem Fall mit Corticosteroiden behandelt. Die Ergebnisse durch den Zusatz von 0,25 µg/ml Triamcinolon zum Kulturmedium lauten zusammengefaßt:

1. Für die Fälle I und II ergeben die Untersuchungen an den Hormonzusatzpräparaten in der Pappenheim-Färbung gegenüber den Kontrollen eine signifikante Hemmung der Zellausreifung in der Erythropoese. Auch in der granulocytären Reihe ergibt sich für Fall I eine signifikante Hemmung der Zellausreifung, während im Fall II keine Beeinflussung durch das Hormon zu erkennen ist (Abbildung 1 und 2, Tabelle 15).

   Die Giemsa-Präparate des Falles III zeigen unter Triamcinolon-Einfluß eine signifikante Zunahme der reifen Erythroblasten (Abbildung 3, Tabelle 15). Die Granulocytopoese wurde in diesem Fall nicht eindeutig beeinflußt.

   Bei Fall IV - hier liegt das Krankheitsbild einer sideroachrestischen Anaemie vor - bewirkt das der Kultur zugesetzte Triamcinolon gegenüber den Vergleichskulturen in der Erythropoese eine signifikante Ausreifungsförderung. Diese Förderung kann als eine "Normalisierung" der durch die Erkrankung linksverschobenen

Erythropoese betrachtet werden. In der Granulocytopoese findet man in diesem Fall dagegen eine signifikante Hemmung der Zellausreifung. Tabelle 15 und Abbildung 4 geben darüber Auskunft.

2. Die Mitoseindices sind in den Triamcinolon-Kulturen in der Erythropoese sehr stark verringert, bis auf einen Fall finden sich unter Hormoneinfluß gar keine Mitosen (Tabelle 6). Nach 24, 48 und 72 Stunden ist die Abnahme der Mitoserate signifikant (Tabelle 15).

   Auch in der weißen Reihe findet man unter Triamcinolon eine Mitoseabnahme auf zwei Drittel der Kontrollwerte, so daß man von einer Regenerationshemmung sprechen kann (Tabelle 7). Die Abnahme der Mitosen ist nach 72 Stunden signifikant (Tabelle 15).

3. Die Mittelwerte der G/E-Indices sind in den Zusatzpräparaten gegenüber den Kontrollen zu allen Zeiten erhöht (Tabelle 5).

4. Die karyologische Kurve zeigt in der Granulocytopoese unter Triamcinolon-Einfluß eine Verschiebung zu Gunsten der Metaphasen. Die Zunahme der Metaphasen in den Zusatzpräparaten ist signifikant (Tabelle 15).

5. Das retikuläre Gewebe erfährt durch das Triamcinolon eine Verringerung der Zellzahlen. Bei den großen Retikulumzellen ist diese Abnahme schon nach 24 Stunden signifikant. Nach 48 Stunden kommt es in der Hormonzusatzkultur zwar wieder zu einer Zellvermehrung, bei 72 Stunden haben wir aber hier - wie auch bei den kleinen und den phagocytierenden Retikulumzellen - eine signifikante Abnahme der Zellzahlen (Abbildung 5, Tabelle 10, 11, 12 und 15).

6. In der Lymphopoese bewirkt das Triamcinolon nach 24 und 48 Stunden einen Abfall der Zellzahlen gegenüber den Kontrollen. Die Zellzunahme nach 72 Stunden, bei der es sich wahrscheinlich um eine relative handelt, ist sowohl bei den Lymphoblasten als auch bei den Lymphocyten in einem Fall statistisch signifikant (Abbildung 6, Tabelle 13, 14 und 15). In den anderen 3 Fällen dominiert die Tendenz zur Lymphocyten-Abnahme (Tabelle 14).

7. In der Granulocytopoese kommt es über 24 Stunden bis 48 Stunden durch Triamcinolon-Zusatz zu einer Steigerung der ALP-Aktivität. Zum Zeitpunkt von 72 Stunden ist in 2 Fällen ein niedrigerer ALP-Index gegenüber den Kontrollen zu verzeichnen (Tabelle 9).

   Die retikulären Zellen erfahren nach 24 Stunden in allen 4 Fällen durch das Triamcinolon eine stärkere Zunahme der Enzymaktivität als in den Kontrollkulturen. Nach 48 und 72 Stunden liegt die Aktivität bis auf einen Fall ebenfalls höher als in den Kontrollversuchen (Tabelle 8).

DISKUSSION

Die Einwirkung von Corticosteroiden auf menschliches Knochenmark wurde bereits mehrfach untersucht (u.a. von BOLL[5], ELVES[11], TORMEY[35], MILLER und DUKOR[22], THOMAS und SEIDLER[34]). Über die Wirkung speziell von Triamcinolon auf menschliches Knochenmark scheinen bisher weder in vivo noch in vitro Ergebnisse vorzuliegen.

In Übereinstimmung mit zahlreichen Untersuchungen über die hemmende Wirkung von Corticosteroiden auf das lymphatische System (12, 1, 11, 35) stellten auch wir 24, 48 bzw. 72 Stunden nach Triamcinolon-Zusatz eine relative Abnahme der Lymphocyten in den Kulturen fest. Nur in einem von 4 Fällen zeigten die Lymphocyten nach 3 Tagen Kultivierungszeit eine signifikante Vermehrung gegenüber den entsprechenden Kontrollen. Womöglich handelt es sich nur um einen relativen Anstieg, der durch eine stärkere Verringerung der Erythroblasten und Granuloblasten bedingt ist, die durch Triamcinolon ebenfalls in ihrer Proliferation gehemmt werden und in vitro leichter lädierbar sind als die Lymphocyten. Die Verringerung der retikulären Zellen unter Triamcinolon-Einfluß stimmt mit den Resultaten der in-vivo-Versuche von FLEISCHER[12] überein.

Wie in der Einleitung bereits dargestellt, beobachten zahlreiche Untersucher unter Corticosteroidgabe eine Abnahme der Mitoserate vor allem der granulocytopoetischen Reihe (25, 24, 27).

Auch wir sahen nach 1 bis 3 Tagen Bebrütungszeit eine signifikante Abnahme der Mitoserate der Erythropoese in den Hormonkulturen (Tabelle 6 und 7). In der Granulocyto-

poese liegen die Werte etwa ein Drittel niedriger als in den Kontrollkulturen, sind aber erst nach 72 Stunden signifikant (Tabelle 15). Verglichen mit NOWELL[24] verwendeten wir eine ca. 10-fach schwächere Konzentration des Corticoids und hatten deshalb in der Granulocytopoese auch einen geringeren Rückgang der Mitoserate.

Unter Triamcinolon-Zusatz kommt es zu einer signifikanten Zunahme der Metaphasen (Abbildung 7 und Tabelle 7). Da unter Hormonzusatz keine Ana-, Telo- und Rekonstruktionsphasen mehr vorhanden sind, deutet das auf ein Vorkommen von Endomitosen hin und damit auf eine weitere Verminderung der Zellverdopplung. Die Mitosehäufigkeit ist dadurch noch geringer als es der erniedrigte Mitoseindex aussagt.

Die in Fall IV aufgetretene Förderung der Ausreifung in der Erythropoese ist möglicherweise auf das Ausgangsmaterial bei der sideroachrestischen Anaemie zurückzuführen. Diese Reifungsförderung ist als eine "Normalisierung" der linksverschobenen Erythropoese anzusehen. Denselben Effekt hatte auch Prednisolonacetat-Zusatz bei diesem Fall (7).

Bei einem Vergleich unserer anderen Reifungskurven mit denen unter Prednisolonacetat-Zusatz in gleicher Konzentration (U. CHRISTOPH) fällt auf, daß die Reifungshemmung unter Prednisolonacetat stärker ausgeprägt ist als unter Triamcinolon. Nur in einem Fall bewirkt Prednisolonacetat in der Erythropoese eine Reifungshemmung, während Triamcinolon eine Reifungsförderung zur Folge hat (Fall III).

Bedenkt man, daß nicht nur die antiinflammatorische Wirkung, sondern auch der pharmakokinetische Effekt von Triamcinolon stärker sein könnte als von Prednisolonacetat, so wäre zu schließen, daß sich die Reifungshemmung umgekehrt proportional zu der Corticosteroid-Konzentration verhält, d.h. mit steigender Konzentration abnimmt. Diese Hypo-

these wird gestützt durch die Untersuchungen von BOLL[5], in denen die sehr hohe Prednisolon-Natriumtetrahydrophthalat-Konzentration von 2,5 mg/ml zu einer Reifungsförderung führte.

Die Regeneration verhält sich umgekehrt; sie nimmt unter Prednisolonacetat-Zusatz weniger ab als unter Triamcinolon, so daß man auch hier in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (13, 14, 32) eine direkte Dosisabhängigkeit feststellen kann.

Zu diskutieren ist außerdem, ob sich die beiden Corticosteroide Triamcinolon und Prednisolonacetat im pharmakokinetischen Effekt auf die Haematopoese unterscheiden: Verschiedene Angriffspunkte an der Zelle selbst wären denkbar. Die Versuchsergebnisse von TAIFOUR[32] bestärken uns in dieser Annahme. Er hatte 10 verschiedene Nebennierenrindenhormone auf ihre Wirksamkeit an Mäusefibroblasten getestet und mit Triamcinolon und Prednisolonacetat unterschiedliche Ergebnisse erhalten: Prednisolonacetat bewirkte eine Proliferationshemmung, während unter Triamcinolon eine Vermehrung der Mäusefibroblasten stattfand.

Vergleichen wir die Ergebnisse von TAIFOUR[32] mit unseren und denen von U. CHRISTOPH[7], so ist zu erkennen, daß durch Zusatz von Triamcinolon in vitro die Regeneration der Haematopoese stärker und die Reifung weniger gehemmt werden als unter Prednisolonacetat, während an Mäusefibroblasten in vitro Prednisolonacetat eine wesentlich ausgeprägtere Proliferationshemmung als Triamcinolon bewirkt.

Bei in-vivo-Untersuchungen fanden STRAUSZ[30], SZATMAR[31], VALENTINE[36] durch Prednisolon bzw. ACTH eine Steigerung der ALP-Aktivität an menschlichen Granulocyten. Ebenso wurde an vorher ALP-negativen Mamma-Zellen und HeLa-Zellen durch Gabe von Prednisolon Fermentaktivität erzielt[8].

Bei Knochenmark- und Blutzellen wird die höchste Aktivitätsstufe der ALP nach 48 Stunden in vitro erreicht (DÜRING[10]), was wir bestätigen können. Die Zugabe von Triamcinolon führt in 3 von 4 Fällen zu einer Steigerung der Phosphataseaktivität in den Retikulumzellen und in den Granulocyten (Tabelle 5). In den Kontrollen negative Zellen werden durch Triamcinolon-Zusatz ALP-positiv.

Welche Rückschlüsse auf den Zellstoffwechsel und die Funktionstüchtigkeit der Zellen aus der Zunahme der ALP-Indices zu ziehen sind, ist noch nicht geklärt. Es könnte sich um ein Degenerationszeichen handeln, dafür sprechen Untersuchungen von LÖFFLER[18], der in Abbauformen von Leukocyten aus Ergüssen eine starke ALP-Aktivität fand. Gegen diese These spricht allerdings die Tatsache, daß die höchste ALP-Aktivität in unseren Untersuchungen - wie auch bei DÜRING[10] - in der 48-Stunden-Kultur nachweisbar ist, während sie in der 72-Stunden-Kultur wieder abnimmt, obwohl jetzt sicher mehr degenerierte Leukocyten vorhanden sind.

Zur Frage, welche Folgerungen sich für die therapeutische Anwendung des Triamcinolons aus diesen Untersuchungen ergeben, muß zunächst festgestellt werden, welcher therapeutischen Dosis die hier angewendete Konzentration entspricht. Vergleicht man die Aktivität der Corticosteroide, beurteilt nach der sogenannten antiinflammatorischen Wirkung bei Rheuma-Patienten (33), so ergibt sich folgendes Verhältnis: Triamcinolon wirkt etwa fünfmal so stark wie Cortisol. Daher entspricht eine Konzentration von 0,25 µg/ml Triamcinolon einer Cortisol-Konzentration von 1,25 µg/ml. Da der mittlere Cortisol-Spiegel mit 0,15 µg/ml angegeben wird (KRISCH) und in dem Kulturmedium Plasma und Serum des Knochenmarkspenders im Verhältnis 4:5 verdünnt werden, muß zu dem Triamcinolon-Zusatz noch eine Cortisol-Konzentration von 0,15 x 4/5 = 0,12 µg/ml addiert werden. In dem Kulturmedium liegt somit eine Cortisol-Äquivalenzkonzentration von

1,37 µg/ml vor, eine Konzentration, die etwa achtmal so hoch wie der normale Cortisol-Spiegel liegt.

Mit einer täglichen Cortisol-Produktion von 20 bis 30 mg wird der normale Spiegel von 0,15 µg/ml aufrechterhalten (KAISER[15]). Es müßten demnach 170 bis 255 mg Cortisol pro Tag produziert werden oder 30 bis 50 mg Triamcinolon zugeführt werden, um den achtfachen Spiegel zu erreichen. Unsere Triamcinolon-Konzentration im Kulturmedium entspricht somit einer therapeutischen Dosis von 30 bis 50 mg Triamcinolon/die.

Diese Rechnung gibt nur einen groben Anhalt, da sie voraussetzt, daß das Cortisol gleichmäßig im Körper verteilt ist und daß die Ausscheidung und Metabolisierung von Triamcinolon derjenigen von Cortisol entspricht.

Abschließend ein Wort zur klinischen Anwendung des Triamcinolons: Das Medikament ist nach den vorliegenden Ergebnissen bei akuten Leukaemien indiziert, da das Hormon zu einer Regenerationshemmung der Granulocytopoese wie der Erythropoese führt und somit als Radiomimetikum wirkt. Es müßte sich als Radiomimetikum besser eignen als das Prednisolon, da es bei stärkerer Regenerationshemmung eine geringere Reifungshemmung bewirkt.

Bei Leukopenien, die ihre Ursache in einer toxischen Schädigung des Knochenmarkes haben, ist die Therapie mit Triamcinolon wegen der proliferationshemmenden Wirkung contraindiziert.

ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

An 5 Fällen wird das Verhalten von menschlichen Knochenmarkzellen unter Einwirkung von 0,25 µg/ml Triamcinolon in Bezug auf Zellproliferation und Veränderung der Aktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase untersucht. Die Auswertung der Giemsa-Präparate ergibt, daß das Hormon eine signifikante Proliferationshemmung etwas mehr der Erythropoese als der Granulocytopoese bewirkt. Die Regeneration wird in vitro stärker gehemmt als durch Prednisolonacetat, die Reifung weniger. Außerdem kommt es durch Triamcinolon zu einer signifikanten, relativen Abnahme der Retikulumzellen.

Bei einer sideroachrestischen Anaemie wird die Reifung der Erythropoese nach der Reifungskurve und dem G/E-Index stark gefördert.

Die Fermentaktivität der alkalischen Leukocytenphosphatase wird durch Triamcinolon-Zusatz in vitro deutlich gesteigert.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF, Nr. 031-64-1 BIAD.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BASERGA, A., M. MORSIANI: Regeneration des lymphatischen Gewebes nach Prednisolon.
Schweiz. med. Wschr. 91: 1190 (1961)

2. BELITZ, H.-J.: Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie. in "Der Mathematikunterricht", Heft 3/60
(Klett, Stuttgart 1960)

3. BERNTSEN, C.A. jr., R. H. FREYBERG, W. H. KAMMERER, L. HELLMAN: An early progress report on the effects of 16-alpha-hydroxy, delta-1-9-alpha-Fluorohydrocortisone (Triamcinolone),
New York Rheumatism Assoc. Cornell Med. School, April 1957

4. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
(Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966)

5. BOLL, I., G. MERSCH, S. SCHOEN, U. GÖTTKE, D. BOXHEIMER, G. LUCKE: Hormoneinwirkung auf die Proliferationskinetik humaner Knochenmarkkulturen.
Klin. Wschr. 46: 608 (1968)

6. CAVALLI-SFORZA, L.: Biometrie.
(Fischer, Stuttgart 1969)

7. CHRISTOPH, U.: Die Einwirkung von Prednisolon auf menschliches Knochenmark in vitro (ausgewertet im Giemsa-Präparat und mit alkalischer Leukocytenphosphatase).
Diss., Berlin (im Druck)

8. COX, R. P., C. M. McLEOD: Hormonal induction of alkaline phosphatase in human cells in tissue cultures.
Nature 190: 85 (1961)

9. COX, R. P., C. M. McLEOD: Alkaline phosphatase content and the effect of Prednisolone on mammalian cells in culture.
J. gen. Physiol. 45: 439 (1962)

10. DÜRING, G.: Die zytochemische Reaktion der alkalischen Leukocytenphosphatase in der Knochenmarkkultur.
Diss. (Berlin 1969)

11. ELVES, M. W., J. GOUGH, M. C. G. ISRAELS: The place of the lymphocyte in the reticulo-endothelial system: A study of the in vitro effect of prednisolone on lymphocytes.
Acta haemat. 32: 100 (1964)

12. FLEISCHER, J.: Die Wirkung längerer Gaben von Prednisolon und Endoxan auf das Knochenmark des Kaninchens.
Folia haemat., N. F., 7: 323 (1963)

13. GABOUREL, L., I. ARONOW: zitiert nach U. HECKMANN: Zur Prednisolonwirkung auf Malignomzellen in der Gewebekultur.
Med. Welt, N. F., 18: 483 (1967)

14. JAFFE, J. J., G. A. FISCHER, A. D. WELCH: zitiert nach U. HECKMANN: Zur Prednisolonwirkung auf Malignomzellen in der Gewebekultur.
Med. Welt, N. F., 18: 483 (1967)

15. KAISER, H.: Cortisonderivate in Klinik und Praxis. 4. Aufl.
(Thieme, Stuttgart 1965)

16. KAPLOW, L. S.: A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow.
Blood 10: 1023 (1955)

17. KRISCH, K.: Physiologisch-chemische Grundlagen der Wirkung von Corticosteroiden.
Therapiewoche 50: 18 (1968)

18. LÖFFLER, H.: Diskussionsbeitrag zum Thema Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen. Cyto- und Histochemie in der Haematologie. IX. Freiburger Symposion.
(Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963)

19. MEISSNER, J., H. G. HANSEN, U. WULFF: Zum Wirkungsmechanismus des Cortisons auf den Nukleinsäurestoffwechsel.
2. Jahrestagg. Ges. f. Nukl. Med., Heidelberg 1964, S. 1377

20. MERKER, H., L. HEILMEYER: Die alkalische Phosphatase neutrophiler Leukocyten.
Dtsch. med. Wschr. 85: 253 (1960)

21. MERKER, H.: Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen. Cyto- und Histochemie in der Haematologie.
IX. Freiburger Symposion.
(Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963)

22. MILLER, J. F., P. DUKOR: Die Biologie des Thymus nach dem heutigen Stand der Forschung.
(Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M. 1964)

23. MÜLLER, D.: Die Wirkung von Prednisolon auf das menschliche Knochenmark und auf Leukaemiezellen.
10. Europ. Haemat. Kongr., Straßburg 1965

24. NOWELL, P. C.: Inhibition of human leukocyte mitosis by Prednisolone in vitro.
Cancer Res. 21: 1518 (1961)

25. RAPPAY, G., G. FAZEKAS, A. GYEVAI: Effect of hydrocortisone on growth in vitro of fibroblast-like (Fl) cells derived from rat organs.
Acta Med. Acad. Sci. Hung. 25: 451 (1968)

26. SCHUBERT, J. C. F.: Cytochemischer Nachweis der alkalischen Leukocytenphosphatase in Myeloblasten.
Med. Welt 11: 531 (1965)

27. SEIFERT, R., H. HILZ: zitiert nach G. RAPPAY: Effect of hydrocortisone on growth in vitro of fibroblast-like (Fl) cells derived from rat organs.
Acta Med. Acad. Sci. Hung. 25: 451 (1968)

28. SPANNHOFF, L.: Einführung in die Praxis der Histochemie. (Fischer, Jena 1964)

29. SQUIBB-INSTITUT: Unveröffentlichte Laborbefunde aus dem SQUIBB-Institut für medizinische Forschung.

30. STRAUSZ, I., E. KÉKES, A. SZEBENI: Mechanism of Prednisolone-induced leukocytosis in man. Acta haemat. 33: 40 (1965)

31. SZATMÁR, E., D. LEHOCZKY, T. FEHER: Neutrophil granulocyte alkaline phosphatase activity after intravenous injection of synthetic ACTH. 13. Int. Haemat. Kongr., München 1970, S. 41

32. TAIFOUR, A.-H.: Autoradiographische Untersuchungen an Glucocorticoid-vorbehandelten Mäusefibroblasten-Kulturen. Diss. (Mannheim 1968)

33. TAUSK, M.: Pharmakologie der Hormone. (Thieme, Stuttgart 1970)

34. THOMAS, K., E. SEIDLER: Knochenmark in vitro unter dem Einfluß cytostatischer und hormoneller Substanzen. Folia haemat., N. F., 4: 2 (1960)

35. TORMEY, D. C., H. H. FUDENBERG, R. M. KAMIN: Effect of prednisolone on synthesis of DNA and RNA by human lymphocytes in vitro. Nature 213: 281 (1967)

36. VALENTINE, W. N., W. S. BECK: Biochemical studies of leukocytes. I. Phosphatase activity in health leukocytosis and myelotic leukemia. J. Lab. clin. Med. 38: 39 (1951)

Frau Professor Dr.med. Irene Boll

möchte ich für die freundliche Unterstützung dieser

Arbeit aufrichtig danken.

LEBENSLAUF

Am 16. 11. 1942 wurde ich, Bärbel Christoph, geb. Roßner, als Tochter des Dipl.-Ing. Herbert Roßner und seiner Ehefrau Margot, geb. Schröder, in Berlin-Tegel geboren.

Im Jahre 1945 flüchtete meine Familie in ein Dorf in der Lüneburger Heide. Dort wurde ich 1949 eingeschult und besuchte von 1953 bis 1962 die Oberschule für Mädchen in Uelzen.

Nach bestandener Reifeprüfung begann ich im gleichen Jahr das Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin. Hier bestand ich am 28. 2. 1969 die zahnärztliche Prüfung.

Seit April 1969 bin ich als Assistentin bei einem Zahnarzt angestellt.

Druck:
Der Präsident der Freien Universität Berlin
- Universitätsdruckerei -
1 Berlin 41, Kelchstraße 31